

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR VETERINAIRE

SOUS LE THEME

*CONTRIBUTION A L'ETUDE
MICROBIOLOGIQUE DES MAMMITES
CHEZ LA BREBIS DANS LA REGION DE
TIARET*

PRESENTE PAR:

M^{elle}: SADAT ASMAA
M^{elle}: ZEDJAR CHERIFA

ENCADRE PAR:

Dr: BENCHOHRA M.



Remerciements

Avant toute chose, nous glorifions Allah عز وجل pour tous les bienfaits qu'Il n'a cessé de nous gratifier. Nous Le louons également pour le courage, la patience, la volonté et la santé dont Il nous fait don durant ces cinq années d'étude. Et que la Paix et la Bénédiction soient sur celui qu'Il a envoyé en miséricorde à toute l'humanité à savoir le prophète Muhammad صلى الله عليه وسلم.

Au terme de ce modeste travail, nous adressons nos sincères remerciements :

Tout d'abord au **Docteur MOKHTAR BENCHOHRA** chargé du module de Pathologies des ruminants , pour avoir accepté de nous encadrer, pour les conseils et encouragements qu'il n'a cessé de nous prodiguer, pour son appui pédagogique, scientifique, technique et son engagement pour l'enseignement. Trouvez ici la marque de notre profond respect et le témoignage de notre vive gratitude.

Nos sincères remerciements aux personnels du service de labo de microbiologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université IBN KHALDOUN de Tiaret à savoir madame **FATIHA** et les autres pour leur disponibilité, leurs encouragements et leur aide permanente à la réalisation de ce projet..

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Et pour finir, Nous tenons à exprimer notre immense gratitude à tous les enseignants de l'Institut des Sciences Vétérinaires qui n'ont pas hésité à se dévouer à donner de leurs temps durant nos cinq ans de formation.



DEDICACE

JE REMERCIE TOUT D'ABORD, ALLAH, LE TOUT PUISSANT ET

CLEMENT DE M'AVOIR AIDE A REALISER CE TRAVAIL.

JE DEDIE ENSUITE CE FAMEUX TRAVAIL AUX PLUS

EXCEPTIONNELS QUI EXISTENT DANS LE MONDE,

MES PARENTS, QU'ILS TROUVENT ICI TOUTE MA GRATITUDE

POUR LEUR SOUTIEN TOUT AU LONG DE MES ETUDES QUE

ALLAH ME LES GARDE.

JE DEDIE EGALEMENT A TOUS CEUX QUI M'AIMENT ET

SPECIALLEMENT A MES ADORABLES

PARENTS.

FRERES : NASROELDINNE , MOSTAFA ET BAHALAL .ET MA

SŒUR : KHADOUDJ., MON ONCLE : BELBACHIR HOUCINE

A MA COPINE SADAT ASMAA.

A TOUTE LA FAMILLE ZEDJAR

A MA PROMOTION DE 5^{EME} VETERINAIRE .

A TOUS MES AMIS SURTOUTS MON PROCHE AMI MELLE REZEG

CHAHRAZED ET AMINE BENDOUNANE.

ENFIN, JE DEDIE CE TRAVAIL A TOUTE PERSONNE QUI M'A

AIDE DE LE REALISER DE PRES OU DE LOIN SANS EXCEPTION.

ZEDJAR CHERIFA.





DEDICACE

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL DE FIN D'ETUDE :

A mon Père, qui a sacrifié sa jeunesse et qui n'a jamais su dire non pour subvenir à mes besoins, au cours de mes études et ma formation.

A MA MERE QUI A VEILLE MES NUITS, QUI M'A TANT SOUTENUE AVEC SES PRIERES, QUI M'A TOUJOURS ENCOURAGE ET QUI A TOUT FAIT POUR M'AVOIR UN JOUR REUSSIR.

A mon Frère MOUNIR

A Mes très chères sœurs SIHEM et IMANE

A MA copine cherifa zedjar

A toute la famille SADAT

A mes amies :

En fin je dédié ce modeste travail à ma promotion.

ASMAA SADAT



LISTE DES ABREVIATIONS

ATB :	Antibiotique
CMT :	California Mastites Test
°C :	Degré celcius
E.COLI:	Escherichia coli
G:	Gramme
G- :	Gram négative
G+ :	Gram positive
GN:	Gélose nutritive
GM:	Gélose Mueller Hinton
GS:	Gélose au sang
IMI :	Infection intra mammaire
ML:	Millimètre
Min :	Minute
Sec :	Second
TSI:	ThreeSucre iron.
α, β:	Alpha, beta
% :	Pourcentage

LISTE DES FIGURES

Figure N°01 : fréquence d'isolement des bactéries d'origine de mammites clinique	10
Figure N 02 : Etiologie des mammites subcliniques des ovins.....	11
Figure N 03 :Technique de prélèvement pour le test CMT	18
Figure N04 :Technique de prélèvement de lait.....	24
Figure N° 05 :conservation des prélèvements.....	24
Figure N°06 :Matériel pour la réalisation de la bactériologie	26
Figure N°07 : Milieu Chapman-mannitol: milieu d'identification dans des tubes essais	26
Figure N°08 : Gélose nutritive dans les boîtes de Pétri : milieu de culture des souches	26
Figure N°9 :Schéma d'identification des Coques à Gram positif isolés.....	28
Figure N°10 :schéma d'identification des bacilles à gramme négatif.....	29
Figure N°11 : le protocole expérimentale.....	38

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau N°01 : Règles de prédiction de IMI basées sur les CCS.....	17
Tableau N°02 : interprétation du CMT	19
Tableau N°03 : critères d'identification des principaux pathogènes sur gélose au sang à l'esculine	31
Tableau N°04 : liste des antibiotiques testé et leurs charges respectives.....	34
Tableau N° 05 : diamètre de sensibilité aux antibiotiques pour apprécier la résistance ou la sensibilité	35

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Partie bibliographique

Partie 1

Chapitre 1 : définition d'une mammite

1-définition	2
1.1.processus infectieux	2
1. la phase d'invasion	3
1-1-exposition de la mamelle à l'agent pathogène.....	3
1-2-pénétration des microorganismes	3
2.la phase d'infection	3
3.la phase d'inflammation	4
1.2. Colonisation de la mamelle	4
1.3. les mécanismes de défenses de la mamelle.....	5
1-les mécanismes de défense naturelle.....	5
2-les mécanismes de défense immunitaire.....	6
2.1 Immunité innée de la glande mammaire	6
2.2la réponse immunitaire acquise de la glande mammaire	7

Chapitre 2 : les différents types des mammites

2-les différents types des mammites	8
2.1 mammite clinique	8
1) définition	8
➤	Les
mammites suraigues	8
➤	Les
mammites dites colibacillaires	8
➤	Les
mammites gangreneuses.....	9
➤	Les
mammites aiguës	9
➤	Les
chroniques	9
2) etiologie des mammites cliniques	9
2.2mammite subclinique	11
1.définition	11
2.Etiologie des mammites subcliniques	11

Chapitre 3 : Importance des mammites

3- importance des mammites	12
3.1.importance médicale des mammites	12
3.2 importance sanitaire des mammites	12
3.3 importance économique des mammites	13

Chapitre 4 :Diagnostic des infections mammaires

4- diagnostic des infections mammaires	14
--	----

4.1. diagnostic clinique	14
4.1.1.examen clinique de la mamelle	14
4.1.2.Observation du lait	14
4.2.Méthode indirecte	15
4.2.1.comptage des cellules somatiques du lait	15
4.2.2.californian Mastitis Test (CMT)	16
4.2.3 test PH	20
4.2.4. Test de conduction	20
4.3.Méthode direct	21
4.3.1.Analyse bactériologique	21
4.3.2.dosage de l'antitrypsine.....	21
4.3.3.Méthodes enzymatiques	21
4.3.3.1.Activité de lactate déshydrogénase LDH	21
4.3.3.2.Activité de la N-acétyl-D-glucosammidase	22

Partie 2 :prélèvement du lait et méthode de l'analyse

Chapitre 1

1/ technique de prélèvement.....	23
Conservation.....	24
Isolement	25
2/Technique d'identification	25
a/ Matériel	25
b/ ensemencement des geloses et mise en culture	26
c/Identification du germe	27
▪	Etape
préliminaire : vérification de la qualité de l'échantillon	27
▪	Prem
ière étape : différenciation entre Gram positif et Gram négatif	27
Identification final des Gram positifs.....	28
Identification des Gram négatif	29
▪	Deux
ième étape : la différenciation entre les Gram positif par le test de catalase.....	30
▪	Trois
ième étape :identification des grams positifs	30
Identification des streptocoque par le test coagulase	30
Identification des streptocoques selon trois critères	
➤	L'hé
molyse.....	30
➤	Teste
à l'esculine.....	31
➤	Le
test d'agglutination de lance field.....	32

Chapitre 2 : AntibioGramme

a/les antibiotique àtesté	34
b/Matériel pour antibiogramme.....	35
c/Méthode	35

La partie expérimentale

1.	But
du travail	36
2.	MAT
ERIELS	36
A.	Anim
aux et échantillonnages	36
B.	Maté
riels et consommable de laboratoires utilisés	36
B.1. Appareillage	36
B.2. Verreries	36
B.3. Milieux de cultures et autre consommable de laboratoire	36
B.4. Autres Produits	37
C. Le CaliforniaMastitis Test (CMT)	37
D. Prélèvement des échantillons de lait	37
E. Transport des échantillons au laboratoire	38
3. METHODES	38
A. Protocol expérimental	39
B. Analyses bactériologiques	40
B.1. Ensemencement sur gélose au sang	40
a. Principe	40
b. Techniques	40
RESULTATS et DISCUSSION.....	41

INTRODUCTION

Les mammites représentent la deuxième cause de réforme en élevage ovin laitier, après les cas de production laitière insuffisante (respectivement 7,2 et 13 % en moyenne) (Barillet et al, 1999). A ceci s'ajoute l'intérêt économique, hygiénique et réglementaire de cette Pathologie, d'où la place importante qu'elle occupe dans les filières laitières quelle que soit l'espèce concernée, et la volonté mise en œuvre pour réduire son incidence.

Une mammite est une inflammation de la mamelle d'origine principalement bactérienne, qui se traduit très fréquemment par une élévation du nombre des cellules somatiques du lait. Actuellement, pour lutter contre les mammites, les acteurs de la filière traitent les femelles touchées (principalement au tarissement) ou les réforment. Accessoirement, ils tentent d'agir sur les sources de l'infection ; les mécanismes de transmission et les facteurs de susceptibilité. Il n'existe pas à ce jour de vaccin ayant fait la preuve publiée de son efficacité.

Dans la partie bibliographique, nous présenterons l'importance des mammites dans la filière ovine, ainsi que l'étiologie de cette pathologie.

Dans la partie expérimentale, nous nous intéresserons à l'isolement et à l'identification de ces bactéries pathogènes. Il s'agissait de l'analyse bactériologique de lait des brebis allaitantes pour déterminer les causes de l'infection mammaire subclinique.

En fin, la sensibilité et la résistance de chaque souche isolée envers les antibiotiques sera testé par l'utilisation de la technique de l'antibiogramme.

1-Définition

Une mammite désigne, par définition, une inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle due généralement à une infection bactérienne celles-ci peuvent être dues à des désordres physiologiques ou à des traumatismes locaux.

Elle se traduit dans la majorité des cas par une réponse inflammatoire de type cellulaire impliquant une augmentation de la concentration en cellule dans le lait, qui servent à détruire et neutraliser les agents infectieux et à promouvoir la guérison et le retour à un fonctionnement normal de la glande mammaire (**National Mastitis Council 1996**).

Les infections mammaires peuvent être ou non associées à des signes cliniques, on distingue alors les mammites cliniques et les mammites subcliniques.

1.1-processus infectieux

L'évolution de l'infection dépend de l'espèce pathogène et de ses facteurs de virulence (**Harmon 1994; Pearson et Mackie 1979**), de la gestion du troupeau par l'éleveur, ainsi que de l'efficacité des défenses de l'animal (**Burton et Erskine 2003**).

La sensibilité de la mamelle aux infectieux est liée à la période péripartumcolostrogénèse et au début de lactation. A cette période ; l'activité fonctionnelle des polynucléaires est limitée ; la protection à lactoferrine s'affaiblit (**Gabli 2005**) l'ouverture du sphincter et l'écoulement du lait peut favoriser la diffusion de l'infection (**MEISSONNIER 1995**)

Les agents pathogènes pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon, les infections bactériennes par voie endogène (hématophore) étant exceptionnelles. Puis ils se dépassent du trayon vers les alvéoles de la citerne mammaire où le lait est synthétisé (**Rinaldi et al. 2010**).

Ainsi, trois issues sont possibles :

- ✚ la guérison spontanée, mais elle est peu fréquente, observée que dans les 20% des cas. (**BURVENICH et GUIDRY, 1995**)
- ✚ la persistance de l'infection traduisant un équilibre entre la multiplication du microorganisme et les défenses de l'animal
- ✚ l'évolution défavorable de l'infection pouvant aboutir à la perte complète ou partielle de fonctionnalité de la glande, et dans les cas extrêmes, à la mort de l'animal.

Par ailleurs, les mammites présentent un caractère évolutif. Une mammite subclinique peut évoluer en forme clinique, chronique ou aiguë, et inversement (**Poutrel 1985; de Clermont 1992**).

Plusieurs étapes se succèdent lors de processus infectieux :

1- La phase d'invasion

Elle se déroule en deux étapes :

1-1- Exposition de la mamelle à l'agent pathogène

L'infection de la mamelle par voie endogène est exceptionnelle, cependant l'excrétion de microorganismes viables dans le lait sans qu'il y ait réellement mammite, est parfois rencontrée dans certaines pathologies : brucellose, tuberculose, paratuberculose, salmonellose et chlamydie.

En général, le processus infectieux commence par la contamination de l'extrémité du trayon surtout entre les traites ou pendant la traite. Dans le premier cas, les facteurs de l'environnement tels que les logements, le climat et la litière jouent un rôle déterminant. Ils peuvent, dans des circonstances défavorables, contribuer à la multiplication des bactéries dans le milieu extérieur. Dans le deuxième cas, il a été démontré que la contamination du trayon est largement influencée par la morphologie de la mamelle et ces trayons. D'une manière générale, les mamelles pendulaires, les longs trayons et les trayons cylindriques réduisent les distances par rapport au sol et augmentent les risques de traumatismes accidentels. Or, les lésions ainsi créées constituent des réservoirs de microorganismes qui augmentent les probabilités d'infection des quartiers.

1-2 - Pénétration des microorganismes

Les bactéries peuvent franchir le canal du trayon, d'une part par des erreurs de traite, notamment sur traite ou vide trop important qui provoque la destruction partielle de la kératine du canal du trayon en favorisant l'impact de gouttelettes de lait chargées en bactéries (**WEISEN 1974**), d'autre part, les animaux ayant les diamètres du canal les plus larges seraient plus exposés aux infections ainsi que les lésions ou les coupures profondes qui transforment les trayons en des réservoirs importants pour les microorganismes pathogènes comme *Staphylococcus aureus* et les streptocoques.

2- La phase d'infection

C'est le stade où les germes passent de la partie inférieure du sinus du trayon au sinus de la mamelle, aux canaux et canalicules lactifères et finalement aux acini mammaires.

Les germes vont coloniser la mamelle et les enzymes et les toxines qui sont élaborées lors de leur multiplication vont d'une part entraîner des lésions du tissu sécrétoire avec pour conséquence des modifications quantitatives et qualitatives de la production, d'autre part, initier une réaction inflammatoire dans la composante principale est l'afflux de polynucléaires neutrophiles.

3- La phase d'inflammation

L'inflammation est la réponse de l'organisme face aux bactéries. Rapidement, il met en fonction un ensemble de mesures bien adaptées à l'importance de l'agent agresseur, aux dommages cellulaires et tissulaires. Cette réaction inflammatoire est caractérisée par la sécrétion locale de substances immunomodulatrices (cytokines) et par l'augmentation de la perméabilité de l'épithélium des alvéoles, préalable à l'afflux dans le lait de cellules phagocytaires et de diverses substances effectrices (Immunoglobulines, complément, lactoferrine...) en provenance de la circulation sanguine (**POMET.M et ROGUINSKY**).

L'inflammation peut s'accompagner de signes cliniques locaux tels que la présence de grumeaux dans le lait, de quartiers durs, enflés ou douloureux, mais, le plus souvent, l'inflammation est subclinique, sans aucune anomalie directement perceptible du lait, de la mamelle ou de l'état général.

1.2. Colonisation de la mamelle

La transmission des germes se fait essentiellement au cours de la traite, tout au long de l'année. Au cours de la traite, les germes passent des quartiers infectés vers les quartiers sains lors de la préparation des mamelles (mains, lavettes) ou pendant la traite (reflux du lait). Ils contaminent les quartiers sains par transport passif (phénomène d'impact) ou par multiplication active juste après la traite quand le canal du trayon est encore ouvert. La transmission de ces germes se fait tout au long de l'année parce que d'une part les animaux sont traités tout au long de l'année et que d'autre part ces infections sont surtout de nature subclinique et chronique. Cependant, les quartiers à inflammation clinique représentent une source quantitativement plus importante mais plus transitoire. Leur détection est la plupart du temps insuffisante puisque essentiellement basée pour la plupart des éleveurs sur l'atteinte aiguë du quartier et non pas sur la présence de grumeaux dans les premiers jets. (**HANSEN, 2009**)

1.3 les mécanismes de défenses de la mamelle

Pour répondre aux infections intramammaires, les organismes ont mis en place des mécanismes qui permettent d'empêcher les bactéries de pénétrer dans la glande mammaire (défense naturelle), ou si elles sont entrées de les détecter et de les détruire (défenses immunitaires). Ces derniers mécanismes immunitaires reposent principalement sur l'immunité innée et l'immunité adaptative qui collaborent dans l'élimination des germes.

1 Les mécanismes de défense naturelle

La mamelle est fortement soutenue par des ligaments permettant de maintenir les trayons verticaux et empêchant un abaissement du plancher de la mamelle qui risquerait d'être souillée plus fréquemment. La compartimentation des mamelles en deux héli-mamelles chez les petits ruminants permet de limiter la diffusion de l'infection d'un compartiment à l'autre. Le principal point d'entrée des agents pathogènes dans la mamelle est le **trayon** et principalement son apex, où débouche le **canal** qui conduit à la citerne mammaire. Lors de la traite, le canal s'ouvre et peut atteindre 2mm de diamètre, puis il se referme grâce au **sphincter** musculaire dans les deux heures suivant la traite. Ainsi, le sphincter empêche la pénétration des bactéries. Hors lactation, un bouchon de kératine se forme à l'extrémité inférieure du canal du trayon et permet une étanchéité totale au bout d'une semaine environ chez la vache laitière (Paulrud 2005). La **peau** qui recouvre le trayon est aussi un point critique de pénétration des agents pathogènes. Elle est glabre et dépourvue de glandes sudoripares, sébacées ou muqueuses, ce qui la rend très sensible aux conditions extérieures (température et hygrométrie). Une diminution de son élasticité entraîne souvent des lésions de l'épiderme lors de la traite, qui sont facilement colonisables par des germes. Toutefois la structure du trayon lui confère un rôle majeur de barrière physique et chimique (Capuco et al. 1992). La partie interne du canal du trayon est tapissée de cellules squameuses qui forment un épithélium stratifié recouvert de kératine (Paulrud 2005). La kératine par sa structure retient les bactéries et empêche leur migration vers les structures plus profondes. Elle permet l'expulsion des bactéries au moment de la traite et elle contient des substances bactériostatiques (acides gras et protéines) (Craven et Williams 1985).

A l'extrémité intérieure du canal se trouve la rosette de Fürstenberg qui forme un repli muqueux qui sert de point d'entrée et d'activation des leucocytes. Ainsi, le canal du trayon est un site clé, pour limiter la pénétration des agents pathogènes dans la glande mammaire.

La vidange de la mamelle de façon régulière permet de réduire de façon significative la population bactérienne lors d'infection avérée. Cette vidange est soit mécanique (traite) ou bien naturelle par la tétée.

Le pH est, par sa valeur dans une mamelle saine, légèrement acide (6.4 et 6.7) et permet de limiter la multiplication de germe.

2 Les mécanismes de défense immunitaire

Ces mécanismes de défense sont mis en place lorsque les mécanismes de défense naturelle ont été insuffisants et qu'un germe a franchi la barrière du canal du trayon.

En général, les défenses immunitaires sont divisées en deux catégories : l'immunité innée et l'immunité acquise. L'immunité innée (qualifiée aussi de réponse non-spécifique) est le mécanisme de défense prédominant dans la glande mammaire infectée. L'immunité adaptative passe par une reconnaissance des antigènes spécifiques d'un pathogène.

Dans la glande mammaire qui est soumise à de nombreux stress, les effecteurs de l'immunité innée, de l'immunité adaptative collaborent pour fournir une protection optimale de la glande mammaire et une élimination efficace des agents pathogènes responsables de mammites

2.1 Immunité innée de la glande mammaire

L'immunité innée de la glande mammaire est composée à la fois d'éléments cellulaires et humoraux qui reconnaissent spécifiquement des molécules d'agents pathogènes. Le système immunitaire inné a trois effecteurs : le **système du complément**, les **cellules phagocytaires** et les peptides antimicrobiens (Roosjakkers et al. 2005). Le système immunitaire inné reconnaît les antigènes étrangers, tels que les PAMP (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMP) qui sont des molécules conservées entre espèces de microorganismes (Janeway et Medzhitov 2002). Cette reconnaissance passe par les **récepteurs PRR** (*pattern recognition receptors*), tels que les récepteurs Toll-like (*toll-like receptor*, TLR) (Vivier et Malissen 2005), ceux du complément (CLR) et d'autres récepteurs.

L'immunité cellulaire innée s'articule autour des cellules phagocytaires (neutrophiles et macrophages) et des cellules naturelles tueuses (*natural killer* NK) alors que l'immunité innée humorale repose sur le système du complément, les défensines, les peptides antimicrobiens

et diverses substances aux propriétés bactéricides ou bactériostatiques tels que l'oxyde nitrique, la lactoferrine, le lysozyme, la lactoperoxydase et la xanthine oxydase (Goldammer et al. 2004; Rainard et Riollot 2006; Kadowaki et al. 2001).

Immunité cellulaire

Les macrophages, les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les cellules T représentent les populations cellulaires de la glande mammaire saine. Ces cellules sont aussi appelées des cellules somatiques par opposition aux germes exogènes. Il existe une corrélation indirecte entre les concentrations de cellules somatiques dans le lait et le niveau de protection contre la

Plupart des agents pathogènes provoquant des mammites (Schukken et al. 1994).

2.2 La réponse immunitaire acquise de la glande mammaire

Les principaux effecteurs de l'immunité acquise sont les anticorps, les lymphocytes B et les cellules T qui agissent ensemble sous l'action de diverses cytokines (Burton et Erskine 2003; Burvenich et al. 1994). Plusieurs types cellulaires de la glande mammaire, comme les cellules dendritiques, les cellules NK, les lymphocytes T, les macrophages, les cellules CD4⁺ et CD8⁺ jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire locale (Burton et Erskine 2003).

2/les differents types des mammites

2.1. mammite clinique :

1) definition:

les mammites cliniques sont caracterisees par la presence de symptomes fonctionnels(modifications macroscopiquement visibles de la quantite et de la qualite de l'aspect du lait), de symptomes locaux inflammatoires observes au niveau de la mamelle (douleur, chaleur, tumefaction, etc.) et de symptomes generaux (hyperthermie, anorexie, arumination, etc.) .en pratique, on considere qu'il y a mammite clinique des qu'il y a une modification de l'aspect du lait ou de la secretion de la mamelle (critere le plus precoce et le plus constant). enfin, selon la gravite et la simultaneite des symptomes, on distingue, par ordre decroissant de gravite, les mammites cliniques suraiguës, aiguës et subaiguës.

◇ les mammites suraiguës

elles apparaissent brutalement et evoluent rapidement vers des symptomes deleteres. le lait est tres generalement aqueux de couleur jaunatre a rouge fonce, voire purulent et tresdiminue en quantite. le quartier infecte est souvent congestionne, chaud mais parfois a l'inverse, ilest totalement flasque voire froid. l'etat general est fortement altere avec etat de choc, polypnee,hyperthermie ou hypothermie, deshydratation, arumination, evoluant couramment vers le decubituset la mort de l'animal. deux formes de mammites suraiguës se distinguent :

● mammites dites □ colibacillaires □

ce sont les mammites suraiguës les plus observees. l'animal est soit debout maischoquee (hyperthermie, deshydratation, tachypnee, tachycardie avec parfois diarrhee plus ou moinsaqueuse) soit en decubitus avec normothermie ou hypothermie, resultat de l'etat de choc provoquepar les endotoxines bacteriennes et une bacteriemie. la mamelle ne presente pas toujours de signeslocaux a part la modification de la secretion lactee, mais parfois cette derniere peut etre retardeepar rapport aux symptomes generaux. dans certains cas, le quartier est flasque et mou et ne produitplus de lait. ces mammites sont dites □ colibacillaires □ car souvent causees par une infection aenterobacteries.

- **mammites gangreneuses**

ce sont des mammites avec une très forte inflammation du quartier, suivie d'une nécrose de celui-ci. le trayon et le quartier deviennent bleues, noires et froids. le lait est en faible quantité de couleur rouge foncé à café et contient des gaz d'odeur nauséabonde. sans traitement, l'évolution vers la mort de l'animal est inévitable. dans tous les cas, le quartier atteint part en lambeaux durant plusieurs semaines et ne produira plus de lait. *staphylococcus aureus* et les germes anaérobies (*clostridium spp*) sont à l'origine de ce type d'infection.

- ◇ **les mammites aiguës**

ce sont les mammites courantes, avec inflammation du quartier plus ou moins marquée, et une sécrétion modifiée avec présence de grumeaux. une hyperthermie n'est pas systématique. l'évolution est plus lente, et en l'absence de traitement, une chronicité apparaît avec un kyste des bactéries dans le parenchyme mammaire. on rencontre toutes les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires lors d'isolement.

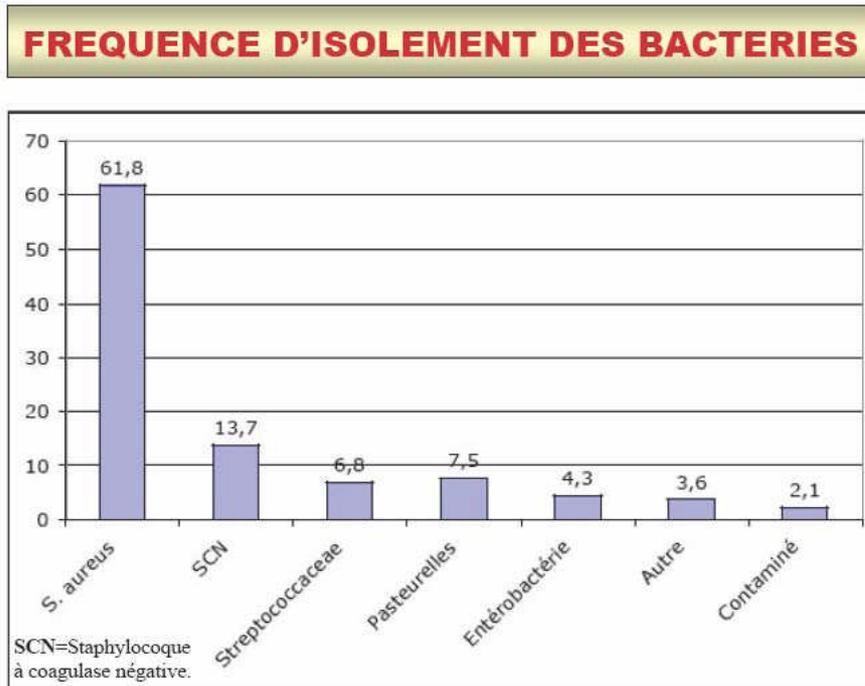
- ◇ **les mammites chroniques**

elles sont secondaires à une mammite aiguë. la mamelle est modérément enflammée et évolue vers la fibrose. elle devient atrophique et présente des zones d'induration à la palpation. l'évolution est lente vers un tarissement du quartier. dans certains cas le quartier reste inflammatoire, dur et chaud avec peu ou pas de sécrétion lactée. cette dernière présente souvent deux phases : une plus ou moins aqueuse et l'autre, du pus en amas obstruant le canal du trayon. le quartier n'est alors plus qu'une vaste abcès. la perte du quartier est inévitable. tous les germes responsables de mammites peuvent être rencontrés avec une prédominance des gram positifs.

étiologies des mammites cliniques

dans les cas sporadiques, *staphylococcus aureus* est prépondérant. selon les travaux de Bergonier et al. (2002) (Marco Melero, 1994) ce germe représente en moyenne 45% des isollements, toutes formes cliniques confondues. par ordre d'importance décroissant viennent ensuite les staphylocoques à coagulase négative (scn), les streptocoques, les enterobactéries, les corynebactéries, les pasteurelles et *pseudomonas spp*.

les cas épidémiques ou enzootiques : sont dus outre *staphylococcus aureus*, à *streptococcus uberis*, ou à des pathogènes opportunistes multirésistants (*pseudomonas aeruginosa*).



Fréquences d'isolement (pourcentages) en culture pure des bactéries à l'origine de mammites sporadiques principalement aiguës à suraiguës (n=302 mammites dans 72 troupeaux des bassins de Roquefort et des Pyrénées-Atlantiques).

Données d'enquête épidémiologique (Longev).

figure 1: fréquence d'isolement des bactéries à l'origine des mammites clinique

2.2.mammites subclinique

definition :

contrairement aux mammites cliniques, les mammites subcliniques ne s'accompagnent d'aucun symptome, ni general, ni local, ni fonctionnel. elles ne sont diagnostiquees qu'a l'aide d'examens complementaires qui mettent en evidence une augmentation du taux cellulaire du lait ou de la conductivite du lait (numeration cellulaire du lait individuel,californian mastitis test, mesure de la conductivite du lait, etc.) [poutrel1985].

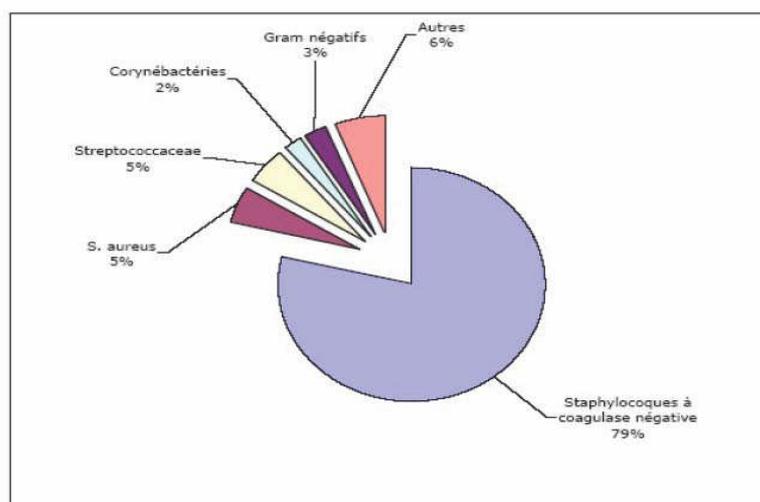
etiologies des mammites subcliniques

chez la brebis laitiere,les scn sont les germes les plus souvent isoles (36,5 % a 93 %). *s. aureus* vient au deuxieme rang, representant souvent des mammites devenues chroniques. dans l'ordre de frequence decroissant, on trouve ensuite les streptocoques, *e. coli* et les corynebacteries.

les travaux menes en france confirment ces donnees : en fonction des etudes, les scn representent entre 80 et 90 % des isolements ; *s. aureus*, *streptococcus* spp. et des enterobacteriessont ensuite isoles, dans cet ordre. au sein des scn, *s. epidermidis* est le plus frequent (31% a 40 % des staphylocoques) dans la majorite des elevages (bergonier et al.,1994a et b).

figure 2

ETIOLOGIE DES MAMMITES SUBCLINIQUES DES OVINS LAITIERS (valeurs moyennes).



Pr D. BERGONIER

3/ importance des mammites

la mammite est une pathologie qui affecte de façon très négative l'économie d'un troupeau laitier ovin (Ranuciet *al.*, 1999).

3.1. importance médicale des mammites :

toute mammite porte préjudice au bien-être de l'animal. De plus, certaines mammites sont mortelles, c'est le cas des mammites gangréneuses, à *Nocardia*, ou les mammites colibacillaires [Poutrel 1985].

les mammites suraiguës peuvent causer la perte de l'animal ou tout du moins du quartier atteint. Les mammites subcliniques sont souvent difficilement curables et entraînent la réforme de l'animal et son abattage précoce. Les mammites aiguës et suraiguës altérant l'état général de l'animal, peuvent intervenir comme facteurs prédisposant à d'autres maladies comme, les arthrites ou des endocardites secondaires au passage du germe dans la voie sanguine. D'autre part, les animaux atteints de mammite même modérée, présentent des modifications de posture et une hyperalgie durable (de quelques jours à quelques semaines).

3.2. importance sanitaire des mammites :

les mammites portent atteinte à l'hygiène animale et potentiellement à la santé publique. Le risque zoonotique lié à la contamination du lait par certains germes fait l'objet de préoccupations de santé publique. En effet, le lait « mammitique » peut être vecteur d'agents responsables de toxi-infections alimentaires (salmonellose, listériose, etc.) [Poutrel 1985].

de fait, en l'absence de pasteurisation, des germes pathogènes pour l'homme provenant de quartiers infectés peuvent contaminer les produits laitiers [Bradley, Seeger 1997]. Certains sont très étudiés :

Staphylococcus aureus, *Listeria monocytogenes*, ou *Salmonella*. D'autres le sont moins comme *Escherichia coli* Seeger 1997.

la colonisation des denrées par ces agents, surtout *Staphylococcus aureus* principal agent de mammites chez les ovins, est associée avec une forme de gastroentérite qui se manifeste cliniquement une à deux heures après l'ingestion par des vomissements avec ou sans diarrhée, une douleur abdominale, et éventuellement des tremblements et des maux de tête (Pasqualatto *et al.* 1998 ; Simeao *et al.*, 2002)

3.3. importance économique des mammites :

chute de production et réforme : les brebis touchées cliniquement ou dont les mammites sont cause d'une chute de production sont souvent réformées.

les mammites constituent le trouble sanitaire le plus fréquent et aux plus fortes repercussions économiques au sein de l'élevage laitier [Coulon JB 97, Guerin-Faubleev 2003]. ceci tient principalement du fait de leur fréquence, des frais vétérinaires qu'elles entraînent (honoraires, coût des traitements le traitement moyen par brebis est coûteux dans les conditions de terrain en comparaison de la valeur de la réforme et du rétablissement qu'on peut en attendre (Bergonier *et al.* 2005). et de leurs repercussions néfastes tant qualitatives que quantitatives sur la production laitière. en effet, celle-ci s'en trouve réduite tandis que l'altération de la composition du lait qui en résulte (baisse du lactose, des caseines, de certains minéraux tels que le calcium et le phosphore, augmentation des protéines solubles inutilisables pour la fabrication de fromages) se répercute sur les aptitudes technologiques du lait (baisse des rendements fromagers, etc.). ceci entraîne donc des pénalités de paiement du lait et une moindre rémunération de l'éleveur [48]. l'impact économique est ainsi formé par la somme des coûts des actions de maîtrise (traitements et préventions) et des pertes (réductions de production, lait non commercialisé, pénalités sur le prix de vente, mortalités et réformes anticipées) [Seegers H, Ziv G 1994].

les mammites sont aussi responsables d'une augmentation des taux de mortalité des brebis et d'une diminution du gain de poids des agneaux, voire d'une mortalité des agneaux.

4/ diagnostic des infections mammaires

4.1. diagnostic clinique

4.1.1. examen clinique de la mamelle :

l'examen clinique de la mamelle s'effectue en trois temps : examen visuel de la mamelle, palpation de la mamelle et examen visuel des secretions mammaires.

l'examen visuel permet d'évaluer la taille, la symetrie des quartiers, la structure superficielle de la peau, la forme et la taille des trayons, la vascularisation de la glande mammaire. on portera attention a la partie laterale en contact avec les cuisses (pyodermites), a la partie anterieure (hematomes, oedemes...) et a la partie posterieur photosensibilisation, adenite).

la palpation permet d'évaluer la consistance de la mamelle (induree, souple), la presence de nodules par pression plus importante (fibrose), la taille et la consistance du canal du trayon, la sensation de chaleur signe d'inflammation et la reaction de l'animal signe de douleur. la palpation doit aussi inclure un examen des nœuds lymphatiques locoregionaux : les ganglions retro mammaires.

l'examen des secretions mammaires doit permettre d'évaluer : la couleur (blanc, jaune, rouge), l'odeur (œuf pourri, aigrette), la consistance, la viscosite, l'homogeneite et la quantite (diminuee, absence). l'examen clinique general completera l'examen de la mamelle permettant ainsi d'apprécier les repercussions sur l'ensemble de l'organisme

4. 1.2. observation du lait :

pour detecterles differentes anomalies qui touchent l'aspect du lait, notamment le changement de couleur et la formation de caillots, de flocons et de pus, il est indispensable d'utiliser un recipient ayant un fond noir et brillant .le taux des composants desirables tel que la matiere grasse ; les proteines et lactose decroit alors que celui des constituants indesirables comme le serum sanguin et le sel augmente ; c'est ce qui donne le gout amer sale du lait , de plus ; elle peut contenir en quantite variable ; des flocons purulents (jaunatre) ou des precipites blanchatres . parfois la secretion est rarement contient du sang ou des bulles de gaz. en cas de mammites clinique chronique, le lait peut prendre un aspect aqueux et egalement contient des quantites variables de flocons purulents ou de fibrine (schweizer et gall, 1983)

4.2. methode indirecte

4.2.1. comptage des cellules somatiques du lait

on parle de cellules somatiques dans le lait par opposition aux bactéries trouvées lors d'infection. dans le lait bactériologiquement négatif, on trouve les cellules suivantes:

principalement des macrophages (45-85%), des polynucléaires neutrophiles (10-35%) des lymphocytes (10-17%) et moins de 5% d'épithéliocytes, cellules dérivées des conduits et sinus du lait (Bergonier *et al.* 2003). lors de processus inflammatoire de la mamelle, les cellules somatiques restent les mêmes mais dans des proportions différentes. les comptages de ces cellules peuvent être réalisés pour chaque brebis (ccs individuel) ou au niveau du troupeau (ccs de tank).

les ccs du lait constituent un marqueur de l'état sanitaire de la mamelle. en effet, une inflammation de la mamelle se traduit par un afflux de leucocytes et donc une augmentation du nombre de cellules somatiques.

chez les ruminants laitiers, en absence d'IMI, les valeurs des ccs sont faibles. même si les valeurs observées varient selon les études, elles sont généralement à 100 000, 150 000 ou 300 000 cellules/ml chez la brebis (Morgante *et al.* 1996; Bergonier *et al.* 1994; Gonzalez-Rodriguez *et al.* 1995)

toutefois, la composition des cellules somatiques du lait dans une mamelle saine varie fortement selon l'espèce animale, les chèvres ayant une forte proportion de cellules épithéliales mammaires (CEM) en relation avec la production apocrine de lait.

en cas d'infection, un afflux massif de neutrophiles du sang vers la mamelle entraîne une élévation importante de la concentration de cellules somatiques (ccs) dans le lait, chez la brebis (Morgante *et al.* 1996) et la chèvre (de Clermont 1992). la ccs du lait peut être considérée comme une estimation de la concentration en neutrophiles du lait et donc comme une caractérisation de l'état inflammatoire de la mamelle (Bergonier *et al.* 2003; Schukken *et al.* 2009).

l'intensité de la réponse cellulaire est très variable selon l'agent pathogène impliqué et les capacités de défense de l'animal. en général, les infections provoquées par des agents pathogènes majeurs s'accompagnent d'une élévation des ccs plus importante que celles provoquées par des agents pathogènes mineurs (Seriéys 1985; Schepers *et al.* 1997). en cas de mammite clinique, les ccs peuvent atteindre plusieurs millions de cellules par ml (Pyorala *et al.* 1997). outre l'amplitude, la durée et l'évolution de la réaction cellulaire peuvent varier considérablement (Harmon 1994) en fonction du pathogène (Riollet *et al.* 1999) et de l'issue de l'infection (persistance, auto-guérison, guérison après traitement ...).

ainsi, l'utilisation de valeurs ponctuelles de ccs pour distinguer de façon instantanée les animaux sains des animaux infectés apparaît peu adéquate (Renéau 1986; Bergonier *et al.*

al.1997). il est plus pertinent d'observer les ccs sur une periode plus longue. en pratique, en france, des regles de decision ont ete proposees pour les trois especes. elles reposent sur des ccs mesures mensuellement sur l'ensemble de la lactation (tableau 2). elles constituent un bon outil de depistage des imi chroniques et durables (bergonier et al. 1997). cependant, elles ne permettent pas toujours de detecter les faibles infections ou les mammites cliniques aiguës de courte duree.

outre le statut infectieux de la mamelle, d'autres parametres peuvent influencer les ccs chez un animal sain. les ccs sont generalement plus eleves en debut et en fin de lactation (serieys 1985b; de clermont 1992; lagriffoul et al. 1996), de part des modifications physiologiques en debut de lactation et une dilution dans un volume de lait plus petit en fin de lactation. elles sont plus faibles lors de la traite du matin que lors de celle du soir, car l'intervalle entre deux traites est plus long, ainsi les cellules sont diluees dans un volume de lait plus important (reneau 1986; harmon 1994; bergonier et al. 1994; de clermont 1992).

neanmoins, le statut bacteriologique reste le facteur preponderant de variation des ccs (harmon 1994; bergonier et al. 1997).

les ccs sont souvent mesurees a partir d'un echantillon de lait provenant de l'ensemble des mamelles de l'animal. elles refletent alors la moyenne des ccs de chaque mamelle, ce qui diminue le pouvoir predictif de la mesure.

tableau 1 : regles de prediction des imi basees sur les ccs (* 1000 cellules/ml) mensuels brebis (bergonier et al, 1997)

* tous les ccs, sauf 1, < 400-500	"sain"
* au moins 3 ccs > 800-1000	"douteux"
* autres cas	"infecte"

4.2.2. californian mastitis test (cmt) :

ce test est base sur l'emploi d'un detergent (solution de teepol a 10%) et d'un colorant (le pourpre de bromocresol). l'adjonction du tensioactif dans le prelevement de lait provoque la lyse des cellules presentes. cette lyse entraine la liberation des differents constituants cellulaires et en particulier celui de l'acide desoxyribonucleique (adn). cette adn libere va se regrouper sous forme d'agregat et donner ainsi au melange une forme un flocculat visqueux. ainsi plus le nombre de cellules presentes initialement est important, plus la viscosite du lait augmente. enfin, la presence du pourpre de bromocresol apporte une precision supplementaire au test. sa coloration violette s'intensifie lorsque le ph augmente.

realisation sa realisation est assez simple. il faut, apres nettoyage et desinfection du quartier a analyser, prelever 2 ml de lait dans un plateau prevu a cet effet (figure 1). le prelevement est ensuite repete sur les autres quartiers. puis on ajoute le reactif en quantite equivalente du lait preleve dans chaque cupule. le melange est ensuite obtenu par un mouvement circulaire pendant quelques minutes. la lecture peut ensuite etre realisee.

figure 3:technique de prelevement pour le test cmt (infovets)



• **interpretation**

l'interpretation de ce test passe par l'appréciation de la couleur et de la consistance du melange forme : une appréciation graduee de negatif a fortement positif est habituellement utilisee.

tableau 2 :interpretation du cmt (donnees du fabricant)

lecture			interpretation	
aspect	score		infection	relation avec la numeration cellulaire moyenne (10 ³ /ml)
	valeur	croix		
consistance normale couleur grise	0	0	absente	100
leger gel disparaissant apres agitation couleur gris violace	1	+/-	risque d'infection par pathogene mineur	300
leger gel persistant, filaments grumeleux couleur gris violet	2	+	mammite subclinique	900
epaississement immédiat amas visqueux au fond de la coupelle	3	+ +	mammite sub clinique	2700
gel epais consistance du blanc d'œuf couleur violet foncé	4	+ + +	mammite subclinique a la limite de l'expression clinique	8100

4.2.4. ph

le seul disponible actuellement en France est distribué par Kruse, le bovine indicator paper. c'est un papier buvard présentant 4 zones pour les 4 quartiers. chaque zone est traitée avec deux indicateurs colorés : le bleu de bromothymol et la nitrazine. le premier vire du jaune au bleu dans une plage de pH de 6 à 7,6, et le second du jaune au vert de

6,4 a 6,8. ce test consiste a deposer un peu de lait sur chaque zone et d'attendre deux minutes. la coloration normale des zones, lorsqu'elles sont imbibees de lait issu d'une mamelle saine, est jaune verdatre, ce qui correspond au ph du lait entre 6,5 et 6,7. lorsqu'on approche d'un ph 7, observe en cas de mammite, la zone du buvard impregnee de lait mammiteux, prendra une coloration de vert franc a vert bleute. cette indication est peu precise : on observe des variations physiologiques du ph du lait qui peuvent induire en erreur. le colostrum est plus acide, et en fin de lactation le ph peut prendre des valeurs avoisinant le 7.

4.2.5. test de conduction

cette methode de diagnostic plus recente s'adresse au depistage non seulement desmammites cliniques mais egalement aux mammites subcliniques. elle est basee sur lacapacite du lait a conduire le courant electrique et aux variations observables lors d'infectionmammaire. l'inflammation peut conduire a une alteration de l'epithelium secretoire et unemodification de la permeabilite capillaire. une augmentation de la concentration en ions na^+ et cl^- dans le lait se produit, alors que la concentration de k^+ diminue en raison de la destruction des liaisons entre les cellules et de l'alteration du systeme de pompage ioniqueprovoquees par les germes pathogenes (kitchenet *al.*,1980). l' unite de mesure de laconductivite electrique est(ms/cm). pour un lait normal, les valeurs se situent entre 4,0 et 5,5 ms/cm a 25°c (billon *et al.*, 2001).

la mesure de conductivite peut s'effectuer soit manuellement a l'aide d'un des nombreux appareils disponibles sur le marche, soit par des appareils de mesures integres dans la griffe de traite. elle permet de detecter 80% des mammites cliniques et 45% des mammitessubcliniques (norberg et al. 2004).

4.3.1. analyse bacteriologique

cet examen permet un diagnostic de certitude de l'infection mammaire.

il consiste en la mise en culture du lait afin de determiner la nature du germe responsable del'infection. on peut prescrire cet examen en realisant un prelevement de lait et en adressant rapidement, sous regime du froid, aux laboratoires. on obtient un resultat entre 5 et8 jours, ce qui permet sur plusieurs prelevements, d'orienter sur la nature du germe, les mesures medicales et prophylactiques a mettre en œuvre.

4.3.2. dosage de l'antitrypsine.

l'antitrypsine est une protéine sanguine dont la présence dans le lait témoigne d'une augmentation de la perméabilité vasculaire : le passage de cette molécule du sang vers le lait a lieu pendant la période colostrale et en cas d'inflammation de la mamelle. cependant, les mammites subcliniques à staphylocoques entraînent des variations minimales de la concentration en antitrypsine dans le lait donc elles ne peuvent pas être détectées de manière fiable par cette technique maisi 1990.

4.3.3. méthodes enzymatiques

ces méthodes permettent la mise en évidence de mammites subclinique de manière précoce. elles sont faciles à mettre en œuvre et peu coûteuses

4.3.3.1. activité de la lactate déshydrogénase ldh

le lactate déshydrogénase ldh est un enzyme lysosomiale contenue en très faible quantité dans le lait normal, suite au processus physiologique de renouvellement du tissu mammaire. en cas d'inflammation, il y a afflux massif de macrophages et de neutrophiles qui se lysent, libérant ainsi la ldh dont l'activité augmente dans le lait. la mesure de cette activité se réalise par spectrophotométrie à 340 nm en mesurant l'absorption du lactate produit dans la réaction

pyruvate + nadh + h⁺ → lactate + nad⁺ catalysée par la ldh

4.3.3.2. activité de la n-acetyl- -d-glucosaminidase

la n-acetyl-d-glucosaminidase est un enzyme cytoplasmique des cellules sécrétoires : la mesure de son activité dans le lait est un bon indicateur de l'état de l'épithélium sécrétoire. la mesure se fait ainsi par spectrophotométrie (mais, 1990), (amandine, 2007)

un certain nombre de glycosidases et plus particulièrement la nagase (n-acetyl-b-d-glucosaminidase) sont présentes dans le lait normal. la concentration de la nagase qui constitue un indicateur des lésions des cellules épithéliales, est augmentée dans le lait de quartiers infectés (kitchen, 1984).

le dosage de cette enzyme est facile à exécuter au laboratoire et ne demande que 15 minutes. elle a fait l'objet de l'évaluation dans les pays scandinaves, comme test de diagnostic des mammites (mattlila et al., 1986). la concentration de la nagase dans le lait concorde avec la CCS (kitchen, 1981 ; mattlila et al., 1986). le taux de nagase est plus élevé dans les quartiers infectés par les pathogènes majeurs par rapport à ceux infectés par les pathogènes mineurs (mattlila et al., 1986).

Prélèvement du lait et méthode d'analyse

1/ Technique de prélèvements

Le prélèvement doit être précis et rapide afin de ne pas le contaminer.

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

Le bouchon est placé immédiatement entre le pouce et l'index de la main gauche, protégeant l'ouverture du pot.

On approche le flacon à l'horizontale du trayon, on élimine les premiers jets sur le sol puis on dirige 3 à 4 jets vers le récipient, on rebouche celui-ci immédiatement (figure 3). On identifie le flacon avec le numéro de la brebis, le quartier et la date du prélèvement. Ce dernier est ensuite placé dans la glacière. La culture doit se faire dans les 48 heures en frais, sinon il y a mise en congélation. Celle-ci permet de garder les prélèvements sur une longue durée, mais il peut y avoir une fragilisation de certains germes avec une chute du nombre de bactéries présentes et donc une augmentation de cultures négatives.

Un cryoconservateur comme le glycérol, utilisé en transplantation embryonnaire, peut être ajouté au lait, à raison de 10 %, de manière stérile pour améliorer la conservation des germes les plus fragiles (entérobactéries).

Le prélèvement doit être accompagné de commémoratifs :

- numéro de brebis
- quartiers atteints
- stade de lactation
- nature de la mammite : 1^{ère} mammite, rechute, taux cellulaires élevés
- si rechute, nature des traitements antérieurs, leurs durées et les résultats.

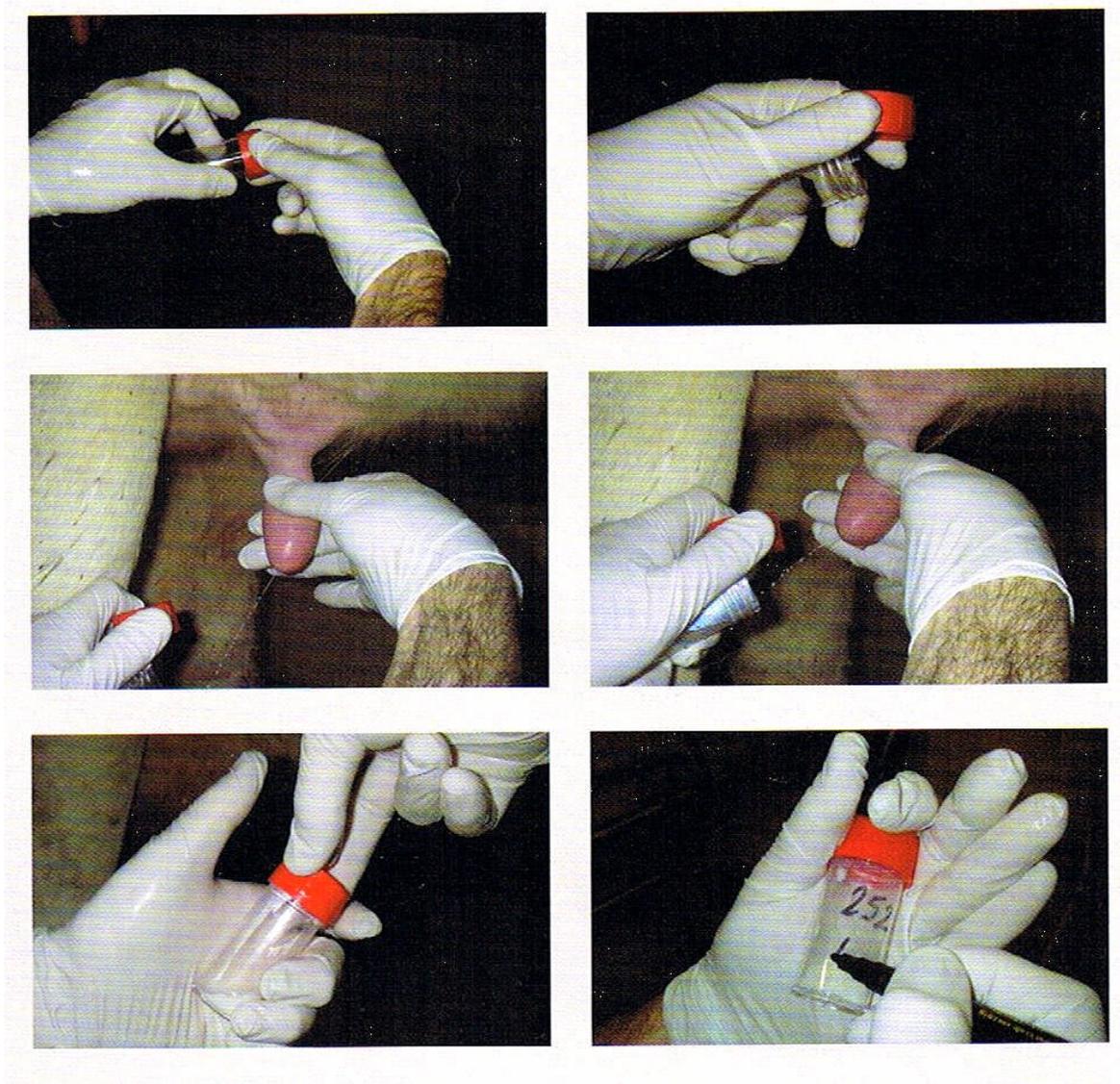


Figure 4 : Technique de prélèvement de lait [d'après FAROULT et LEPAG

Conservation des prélèvements :

le lait doit être réfrigéré aussi vite que possible à une température inférieure à 4C pour prévenir la multiplication bactérienne.<Fransworth,1993>

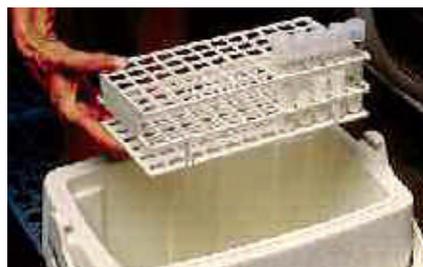


figure5 : conservation des prélèvements

Isolement

Les échantillons de lait sontensemencés à raison d'une goutte de lait par boîte dePétri sur gélose au sang de mouton (10%).Ensuite, l'incubation des boites pendant 24 à 48 heures à 37°C.Le prélèvement est déclaré négatif en l'absence de colonie dans la boîte de pétri.

2/ Technique d'identification

a/ Matériel

- **la verrerie** : Béchers, éprouvettes, tubes à essai, tubes àhémolyse, pipettes pasteur, boîtes de pétri.

- **Les milieux de culture pour isolement et identification :**

Gélose enrichie au sang, milieu Chapman-mannitol, gélose Mueller Hinton, Galeries API des laboratoires.

- **Autres matériels** : seringues, coton, centrifugeuse pour défibriner le sang frais,portoirs, anse de platine, autoclave, bain marie, four pasteur, incubateur, bec bunsen.

- **Réactifs** : plasma de lapin, disque à oxydase, eau distillée, le kit de la colorationde Gram, eau oxygénée.

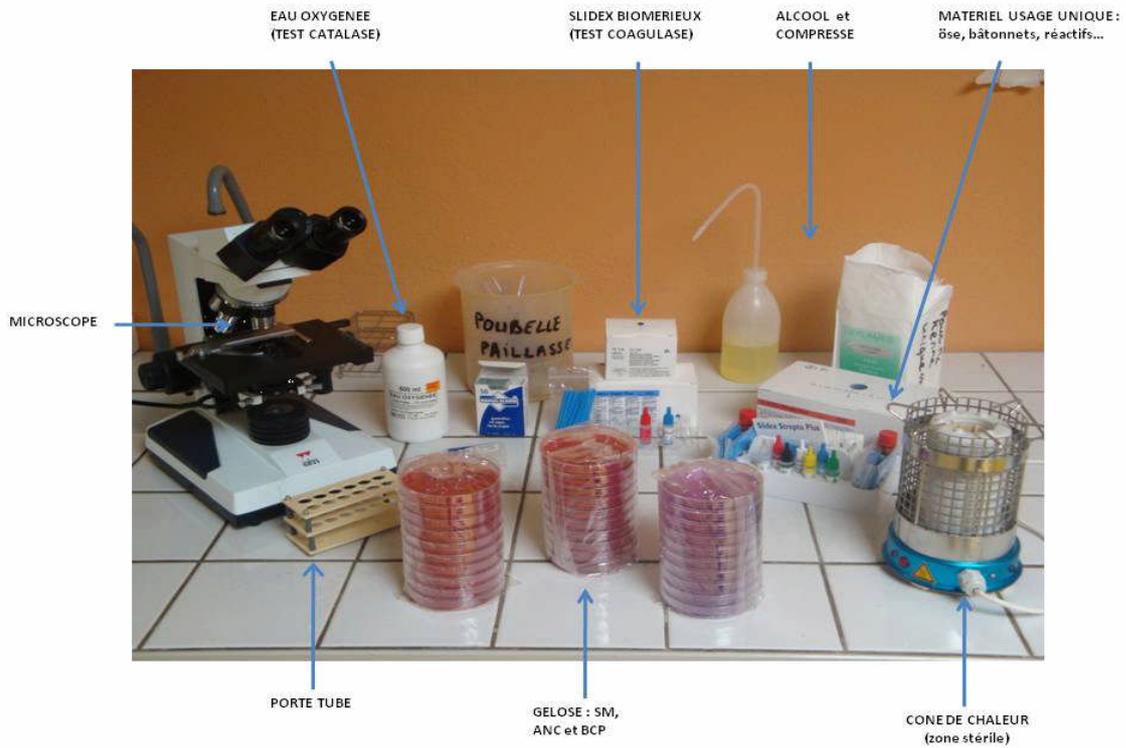


Figure6: Matériel pour la réalisation de la bactériologie



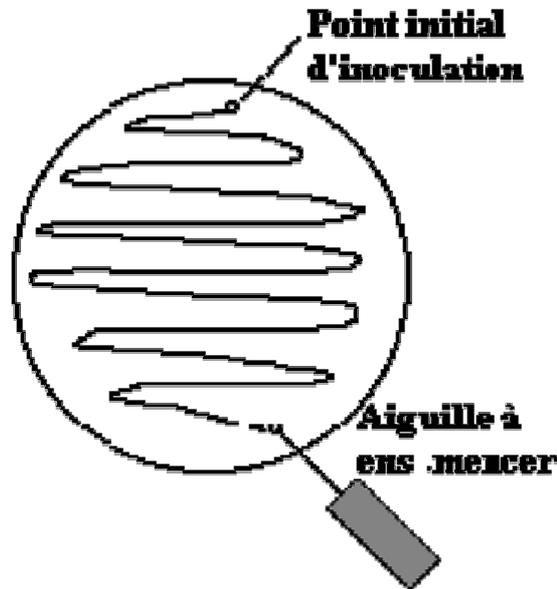
Figure7: Milieu Chapman-mannitol: milieu d'identification dans des tubes à essais Source :

Viban, 2007



Figure 8: Gélose nutritive dans les boîtes de Pétri : milieu de culture des souches
Source :
Viban, 2007

b/ Ensemencement des géloses et mise en culture



c/ Identification du germe

■ Etape préliminaire : vérification de la qualité de l'échantillon

Elle s'effectue au bout de 24 heures et se fait en deux temps. Dans un premier temps, elle consiste à interpréter directement les colonies sur les boîtes de Pétri (forme, couleur, odeur). On note différents paramètres:

- variété des colonies : si plusieurs types de colonies sont présents, le prélèvement est considéré comme contaminé.
- vitesse de développement : les entérobactéries et les staphylocoques apparaissent beaucoup plus vite que les streptocoques.
- Noter la présence d'une hémolyse, son aspect et sa couleur pourront être appréciés.

■ Première étape : différenciation entre Gram positifs et Gram négatifs.

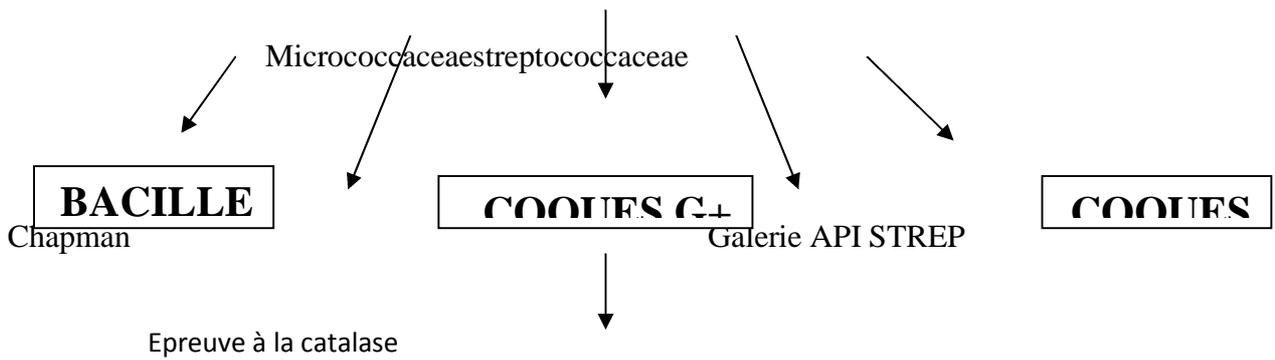
La coloration de Gram est une technique de base en bactériologie qui consiste à inonder la bactérie avec deux solutions colorantes : le violet de gentiane, le lugol (agent de mordantage) et la fuschine. Elle permet à l'aide du microscope optique de distinguer les bactéries à Gram positif (coloration violette) des bactéries à Gram négatif (coloration rose). La coloration de

Gram est le test indispensable à toute démarche d'identification. De plus, la forme, la taille et

Coloration de Gram

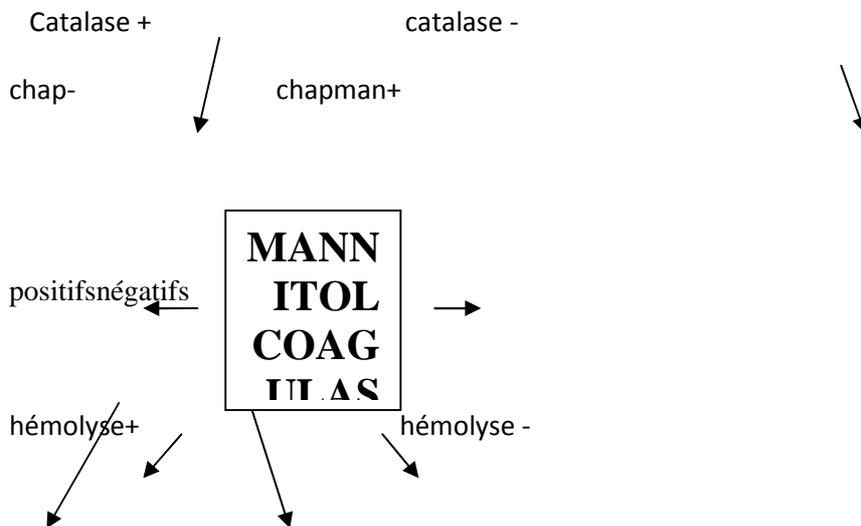
le groupement des bactéries pourront être observés lors de cet examen.

identification finale des Gram positifs



Autre bactérie

staphylococcus spp



staphylococcus aureus

galerie API STAPH

◊ Identification des Gram négatifs

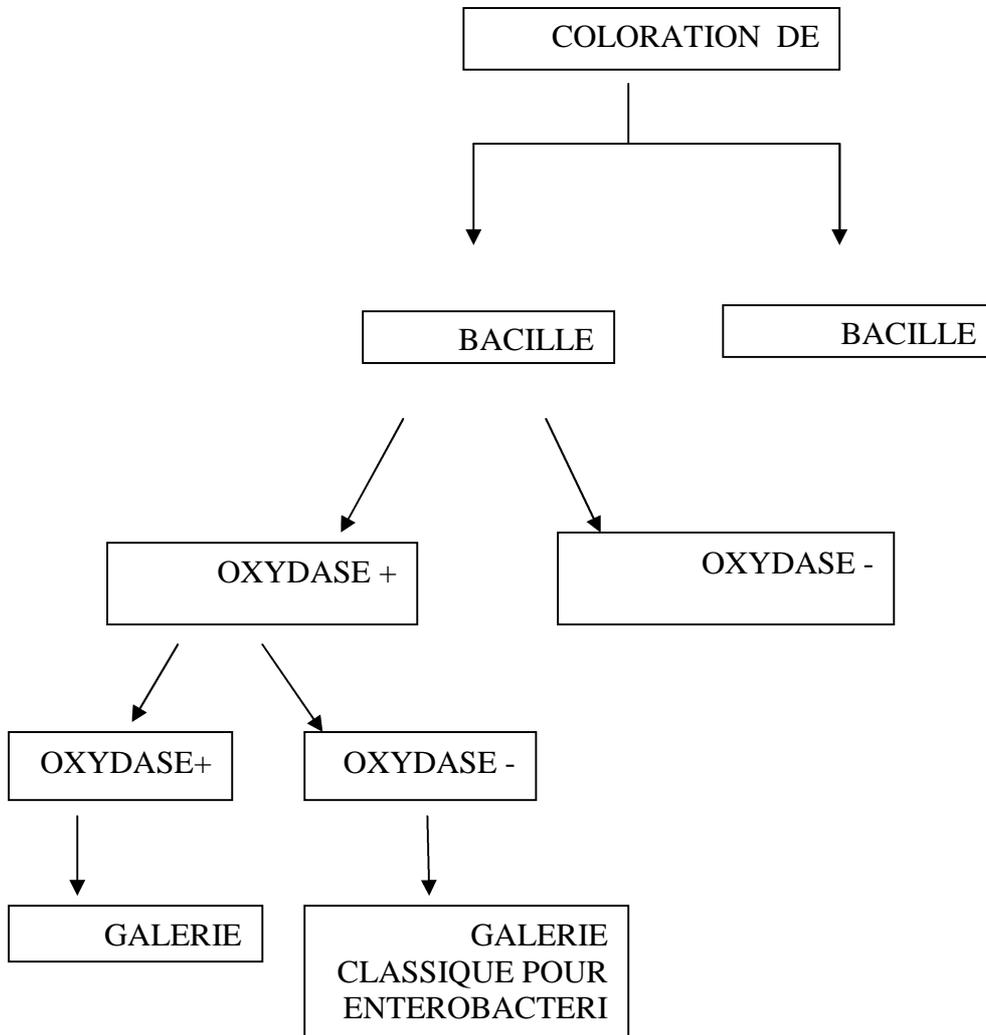


FIGURE 10:SCHEMA D'IDENTIFICATION DES BACILLES A GRAMME NEGATIF

Figure 9 : Schéma d'identification des Coques à Gram positif isolés

■ Deuxième étape : la différenciation entre les Gram positifs par le test de catalase :

Cette enzyme est utilisée en bactériologie systématique pour l'identification des bactéries. Il s'agit de mettre en contact une colonie de la bactérie à étudier en présence d'eau oxygénée (à 10 volumes). Une effervescence (due à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase. Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de

H₂O₂, puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur boutonnée ou une anse plastique à usage unique. Dans ce protocole simplifié, le test à la catalase permet de différencier les Streptocoques (catalase -) et les Staphylocoques (catalase +).

■ Troisième étape : identification définitive des Gram positifs

◇ Identification définitive des Staphylocoques par le test coagulase

Sur une lame de verre, une ou deux colonies sont diluées dans une goutte de suspension d'hématies sensibilisées (SlidexStaph plus®, Biomerieux), une légère rotation est donnée à la préparation. Au bout de quinze secondes, on observe soit la formation d'agrégats (coagulase +) caractéristiques de *S. aureus*, soit l'absence d'agrégats (coagulase-), ce qui nous oriente vers des *Staphylococcus* à coagulase négative, qui peuvent ne pas être pathogènes.

◇ Identification des streptocoques selon trois critères

→ L'hémolyse

L'hémolyse est observée sur la gélose au sang de mouton (et ANC). Un halo vert diffus correspond à une hémolyse α qui nous oriente vers *Str. uberis* ou *dysgalactiae*. Un halo net et clair autour de la colonie caractérise une hémolyse β ce qui oriente vers *S. agalactiae*. L'absence de plage d'hémolyse peut soit orienter vers *Str. uberis* ou *S. dysgalactiae*, et une double hémolyse oriente vers *S. ureus*. Ainsi pour ces deux espèces, le caractère hémolyse est variable.

→ **Le test à l'esculine**

Les colonies à identifier sont inoculées au centre de la gélose à esculine. Les composés libérés au cours de l'hémolyse, lorsqu'elle se produit, réagissent avec les sels de fer pour donner une coloration noire. Une coloration noire correspond à un test esculine positif, par exemple en présence de *Str. uberis*.

Test	<i>Staphylococcus</i>		<i>Streptococcus</i>		Coliformes	<i>Pseudomonas</i>	<i>Listeria</i>
	<i>aureus</i>	SCN	<i>uberis</i>	<i>dysgalactiae</i>			
Gram	Cocci Gram+	Cocci Gram+	Cocci Gram +	Cocci Gram +	Bacilles Gram-	Bacilles Gram-	Bacilles Gram-
Couleur de la colonie	(Variable)	(Variable)	Noires	Grises	Grises	Grises	Noires
Hémolyse	β incomplète (Variable)	(Variable)	-	Complète verte+	- (Variable)	- (Variable)	- (Variable)
Coagulase	+	-	-	-	-	-	-
Oxydase	-	-	-	-	-/+	+	-
Catalase	+	+	-	-	+	+	+
Degré fiabilité de l'identification	+++	++	++	+++	+++	++	++

Tableau 3: Critères d'identification des principaux pathogènes sur gélose au sang à l'esculine

→ Le test d'agglutination de Lance Field

Ce test permet classer les différents streptocoques. Ce test repose sur la mise en évidence d'antigène de paroi. Seul *S. agalactiae* et *S. dysgalactiae* peuvent être identifiés par cette méthode. La première étape consiste à mettre quelques colonies à identifier dans une suspension qui va permettre d'extraire les antigènes. La préparation obtenue est ensuite mélangée à différentes solutions d'anticorps (Slidexstreptokit®, iomériques). Un résultat positif correspond à la formation d'agrégats.

L'antibiogramme :

C'est le résultat de l'étude *in vitro* de la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques. L'antibiogramme est indiqué dans deux circonstances :

-Avant l'utilisation pratique d'un nouvel antibiotique. Dans ce cas, il permet de préciser le spectre d'activité de l'antibiotique c'est-à-dire les bactéries qui lui sont sensibles. Il permet également de déterminer l'intensité de l'action : inhibition de la multiplication (bactériostatique) ou destruction (bactéricide), de l'antibiotique sur les diverses catégories de bactéries sensibles.

- Bien réalisé, il permet de guider la thérapeutique de l'infection. Pour un traitement que l'on veut efficace, il est nécessaire de savoir à quels antibiotiques, la souche bactérienne responsable de la pathologie et isolée, se révèle sensible.

En définitive, l'antibiogramme permet d'éviter les risques d'antibiorésistance qui sont le fruit d'une utilisation abusive et inappropriée des antibiotiques.

Cette étude de l'antibiosensibilité qui a porté sur dix antibiotiques (**Tableau**), a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Il s'agit de déposer des disques d'antibiotique sur une gélose Mueller Hinton précédemment ensemencée par inondation avec une suspension de la bactérie à étudier. Il s'établit dans la gélose un gradient de concentration d'antibiotique autour de chaque disque. Après 24 heures d'incubation, un halo clair d'inhibition, dont le diamètre sera mesuré, est créé autour de chaque disque d'antibiotique. Une comparaison des différents diamètres obtenus aux diamètres critiques publiés par des organisations reconnues tel que le comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM) permet de répondre qualitativement si la souche bactérienne étudiée peut être classée comme sensible (S) ou résistante (R) à l'antibiotique présent sur chaque disque (**Annexe I**).

a/ Les antibiotiques à tester

Antibiotique	Code	Charge de disque
β- LACTAMINES		
Ampicilline	AM	10µg
Pénicilline G	P	6µg
Amoxicilline	AMX	25µg
AMINOSIDES		
Gentamicine	GM	10UI
TETRACYCLINES Doxycycline DO 30UI		
Tétracycline	TE	30UI
FLUOROQUINOLONES		
Norfloxacine	NOR	5µg
SULFAMIDE- TRIMETHOPRIMES		
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	SXT	23,75/1,25µg
POLYPEPTIDES		
Colistine	CS	50µg
MACROLIDES		
Erythromycine	E	15UI

Tableau 4 : Liste des antibiotiques et leurs charges respectives

b/Matériel pour antibiogramme :

Pour réaliser un antibiogramme il faut :

- des disques antibiotiques pre-impregnés des concentrations déterminées
- deux types de géloses :
 - Mueller Hinton 10002 pour les staphylocoques et les colibacilles
 - Mueller Hinton + 5% sang pour les streptocoques
- des écouvillons stériles
- de l'eau stérile en ampoule ou plus simplement une poche de sérum physiologique
- des tubes secs stériles sans gélose à l'intérieur.

c/ Méthode

On prélève une colonie (pour les staphylocoques et les colibacilles car ils poussent rapidement) et 5 à 6 pour les streptocoques (qui se développent plus lentement). Avec un écouvillon stérile, on dilue cet échantillon avec 5 mL d'eau stérile dans un tube sec. On dilue à nouveau, avec le même écouvillon dans la même quantité d'eau stérile. On humidifie un nouvel écouvillon stérile de cette dernière solution et on ensemence la gélose comme pour les cultures précédentes mais en réalisant des « zig-zag » jusqu'au milieu de la gélose, puis une rotation de celle-ci d'un quart de tour et on recommence jusqu'à avoir fait le tour de la boîte de Pétri. Puis on prélève avec une pince stérile les différents disques antibiotiques à tester que l'on dépose délicatement sur la gélose ensemencée. On peut mettre un maximum de sept disques par boîte.

On place la gélose à incuber à 37 ° C pendant 24 heures afin d'obtenir un « tapis de germes » (germes répartis sur l'ensemble de la gélose uniformément). Au bout de 24 heures, parfois lisible un peu avant (surtout pour les staphylocoques), on mesure le diamètre d'inhibition autour de chaque disque. Le tableau suivant donne les diamètres de sensibilité pour les antibiotiques testés

Abréviation	Antibiotiques	Diamètre de sensibilité en mm		
		Résistant	Intermédiaire	Sensibles
P	Pénicilline	<8	8<<29	>29
Amc	Amoxicilline	<14	14<<21	>21
Sxt	Triméthoprime+sulfamide	<10	10<16	>26
E	Erythromycine	<14	14<21	>21
Ox	Oxacilline	<12	12<18	>20

Tableau: diamètre de sensibilité aux antibiotiques pour apprécier la résistance ou la sensibilité

antibiotiques pour apprécier

MATERIEL ET METHODES

1. But du travail :

L'objectif de notre travail était d'isoler et d'identifier les bactéries pathogènes responsables des infections intra mammaires subcliniques chez la brebis allaitante.

Lieu et période de l'expérimentation :

Notre travail expérimental a été effectué au niveau de laboratoire de microbiologie à l'institut vétérinaire de l'université IBN KHALDOUN, Tiaret. L'étude s'est déroulée du début du mois de Janvier à la fin du mois d'Avril 2013

2. MATERIELS :

A. Animaux et échantillonnages :

Les brebis incluses dans l'étude appartiennent à la Ferme Pilote de Rahouia. Le troupeau est composé de 500 têtes dont 300 brebis, ces animaux vivent dans des bergeries ouvertes, constituées d'un abri et un espace libre non couvert ; la litière est souvent mal entretenue et très humide lors des pluies ; l'alimentation est composée d'orge et de paille et brebis allaitantes sont supplémentées avec un complément de son de blé.

L'étude a concernée un effectif de 100 brebis allaitantes, soit 200 demi-mamelle. Les échantillons de lait étudiés appartenaient à des brebis dans différentes phases d'allaitement. Durant la période des collectes aucun traitement n'a été administré aux animaux.

B. Matériels et consommable de laboratoires utilisés :

B.1. Appareillage :

- ✚ Bec bunsen
- ✚ Etuve
- ✚ Micro scope optique
- ✚ Centrifugeuse
- ✚ Glacière
- ✚ Appareil photo numérique

B.2. Verreries :

- ✚ Boîtes pétri
- ✚ Flacons stériles
- ✚ Pipettes pasteurs

- ✚ Eprouvettes graduée

B.3. Milieux de cultures et autre consommable de laboratoire:

- ✚ Gélose nutritive
- ✚ Chapman
- ✚ Mac-conkey
- ✚ Alcool 95 %
- ✚ Eau distillée

B.4. Autres Produits :

- ✚ Anse de platine
- ✚ Bac de coloration
- ✚ Seringues
- ✚ Tubes EDTA
- ✚ Marqueur indélébile
- ✚ Pince en bois

C. Le California Mastitis Test (CMT) :

- ✚ Le but de l'utilisation du California Mastitis Test (CMT) était d'écarter les laits ne présentant aucune altération visible, de l'aspect et de la couleur, ce qui permet d'éviter le prélèvement de laits sains et économiser, par conséquent, les milieux de culture. Il s'agit d'un test basé sur l'utilisation d'un réactif à base d'un tensioactif. Sa réalisation consiste à mettre 2 ml de lait dans chaque cupule du plateau test auxquels on ajoute 2 ml de réactif contenu dans un flacon doseur. Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulatoires et horizontaux du plateau test. La lecture est faite 10 secondes après. Les échantillons retenus sont ceux qui présentaient des réactions positives : 2 (++) et 3 (+++).

D. Prélèvement des échantillons de lait :

Environ 20 ml de lait ont été prélevés aseptiquement et les prélèvements ont été réalisés de la manière suivante :

- lavage et séchage des trayons ;
- désinfection de l'extrémité du trayon avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 95° ;
- élimination des trois premiers jets ;
- le flacon à prélèvement est saisi entre le pouce et l'index de la main gauche et

- on le retourne de telle sorte que le bouchon soit dirigé vers le bas ;
- on dévisse le bouchon avec la main droite et on le porte entre l'index et le médius de la main gauche. Tube et bouchon ont alors leur ouverture dirigées vers le bas afin d'éviter toute contamination ;
- on saisit le trayon de la main droite, on le ramène en position latérale et on traite presque horizontalement dans le flacon incliné à 45 °C ;
- on referme le flacon avant de le redresser ;
- on identifie le flacon en inscrivant : la date, le numéro de l'animal et le quartier prélevé
(D pour droit et G pour gauche).

E. Transport des échantillons au laboratoire :

Les prélèvements ont été transportés au laboratoire de l'institut vétérinaire dans un container isotherme (glacière) à une température de conservation comprise entre 4 et 6°C. La durée écoulée entre collecte des échantillons et mise en culture était d'environ 1 heure 30 mn.

3. METHODES :

A. Protocol expérimental :

Les principales étapes d'analyse suivies dans notre étude expérimentale sont résumées dans le Protocole présenté sous le schéma suivant :

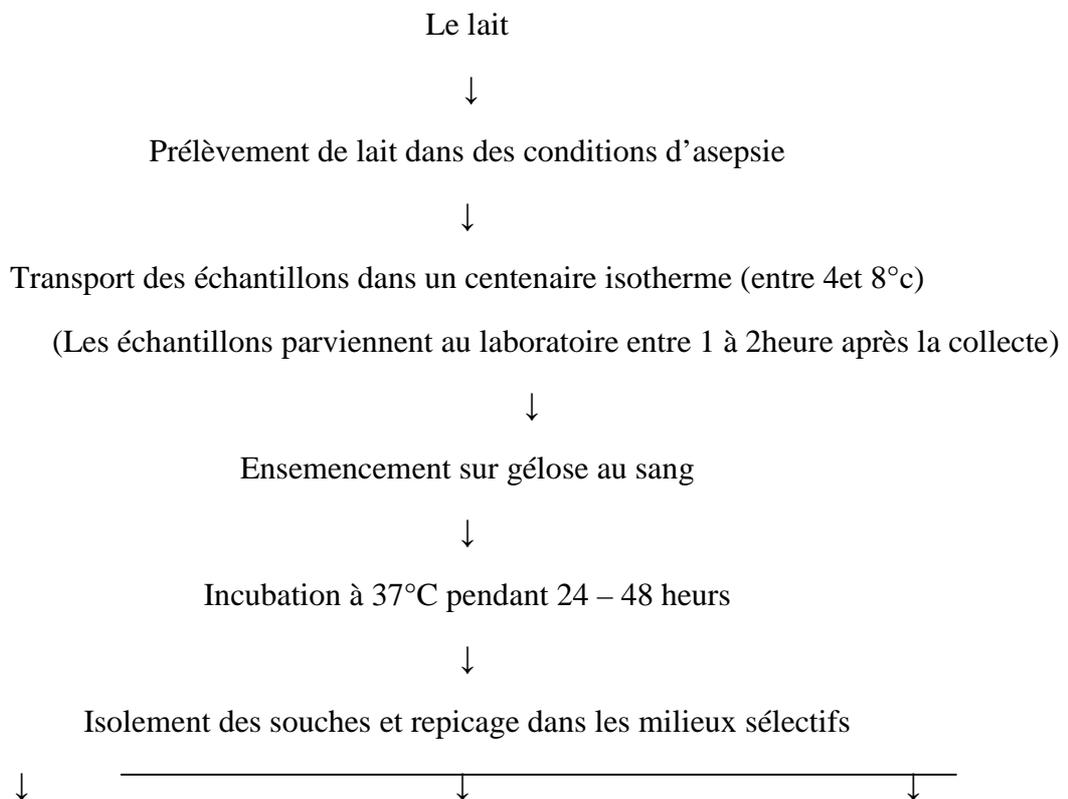


Figure N° 11 : le protocole expérimentale

B. Analyses bactériologiques :

B.1. Ensemencement sur gélose au sang :

La gélose nutritive a été additionnée de 5 % de sang de mouton défibriné par centrifugation (3600 tours/5mn). La centrifugation a été répétée après rajout de 3ml d'eau physiologique au culot. Après séparation du sérum, le sang a été coulé dans le flacon de GN doucement, à fin d'éviter l'éclatement des globules rouges. La préparation de la gélose au sang figure en détail sur l'annexe.

a. Principe :

La gélose au sang est une gélose de base qui ne doit contenir ni glucose, ni peptone de levure qui pourraient modifier l'hémolyse. On peut utiliser 5% à 10% du sang de cheval, éventuellement le sang de lapin ou de mouton (MARCHAL et BOURDON ; 1973).

b. Techniques :

Couler les boites de pétri avec la GS puis, laisser refroidir ;

Ensemencer la gélose par des stries parallèles ;

Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures, puis mettre à 4° Pendant 24 heures ;

RESULTATS et DISCUSSION

Après 48 heures de l'ensemencement des géloses au sang, toutes les cultures étaient négatifs. Ce la signifie qu'il n'y avait pas d'infection sur les échantillons prélevés et qui ont présenté CMT positifs (++). Ce la peut s'expliquer par deux situations, la première étant une réaction légèrement exagérée (> 500.000 cellule/ml situation normale chez la brebis) ; la deuxième c'est des éventuelles infections mammaires à champignons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

BERGONIER, VAN DE WIELE, ARRANZ (J.M.) BARILLET (F.), LAGRIFFOUL, D. Concordet, Berthelot ,1994a. In Rubino R. (Editor), Somatic cells and milk of Small Ruminants. Wageningen Pers, Pays Bas, 1996.41-47.

BERGONIER (D.), LONGO (F.), LAGRIFFOUL (G.), Consalvi (P'J)' van DE WIELE (A)'BERTHELOT (X>.1, 1994b In Rubino R. (Editor), Somatic cells and milk of Small Ruminants. Wageningen Pers. Pays Bas. 1996.53-59.

BERGONIER D. ; De Crémoux R. ; Lagriffoul G. ; Rupp R. et Berthelot X., 2002. Etiologie et épidémiologie des mammites des petits ruminants. Pathologie ovine et caprine. –Paris : Edition du point vétérinaire : 40-45

BRADLEY AJ. Bovine mastitis : an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 2002, **164** (2), 116-128.

BURVENICH C et GUIDRY AJ ; paape M .J. Natural defencemeehamsms of th lactating and dry mammary gland. Proceedings of the 3fl intern.Congress mastitis. Tel Aviv, 1995.

Burton, JL, et RJ Erskine. 2003. « Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease ». *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 19 (1): 1- 45.

de**CLERMONT, R.** 1992. Les cellules dans le lait de chèvre présenté à Institut de l'élevage, 68pp, Paris.

COULON JB, LESCOURRET F. Effet des mammites cliniques sur la production chez la vache laitière. *Rencontres Rech. Ruminants*, 1997, **4**, 265-268.

CAPUCO, AV, SA Bright, JW Pankey, DL Wood, RH Miller, et J Bitman. 1992. «Increased susceptibility to intramammary infection following removal of teat canal keratin ». *J.Dairy Sci*75 (8): 2126-2130.

CRAVEN, N, ET MR WILLIAMS. 1985. « Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement ». *Veterinary Immunology and Immunopathology* 10 (1): 71-127.

FRANCEWORTH RJ. Microbiologie examination of bulk tank Milk .vet .clincs north am. Food anim.pract, 1993.

GABLI ABDELHAFID 2005 : étude cinétique des cellules somatiques dans le lait des vaches atteintes de mammites et de vaches saines. Thèsedoctorat

GOLDAMMER, T, H Zerbe, AMolenaar, HJ Schuberth, RM Brunner, SR Kata, et HM Seyfert.2004. « Mastitis increases mammary mRNA abundance of beta-defensin 5, toll-likereceptor 2 (TLR2), and TLR4 but not TLR9 in cattle ». *ClinDiagn Lab Immunol*11: 174 - 185

GUERIN-FAUBLEE V, CARRET G, HOUFFSCHMITT P. In vitro activity of 10 agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis. *The Veterinary Record*, 2003, 466-471.

GONZALEZ-RODRIGUEZ, MC, C GONZALO, F San Primitivo, et P Carmenes. 1995. «Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes ». *J. Dairy Sci.* 78 (12): 2753-2759

HARMON, RJ. 1994. « Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts ». *J DairySci*77: 2103 - 2112.

INFOVETS. D100 CaliforniaMastitis Test. Mis à jour en 2005.

[<http://www.infovets.com/demo/demo/dairy/d100.htm>]. Consulté le 29 juillet 2009.

JANEWAY, CA, Jr, et R MEDZHITOV. 2002. « Innate immune recognition ». *Annual Review of Immunology* 20: 197-216.

KADOWAKI, N, S Ho, S Antonenko, RW Malefyt, RA Kastelein, F Bazan, et YJ Liu. 2001.« Subsets of human dendritic cell precursors express different toll-like receptors and 244 respond to different microbial antigens ». *The Journal of Experimental Medicine* 194(6): 863-869.

MARCO MELERO (J.C.), 1994. Tesis Doct. Med. Vet., Zaragoza, Espagne.

MORGANTE, M, S Ranucci, M Pauselli, C Casoli, et E Duranti. 1996. « Total and differential cell count in milk of primiparous Comisana ewes without clinical signs of mastitis ». *Small Ruminant Research* 21 (3): 265-271.

MEISSONNIER E., 1995. Infection par les bactéries coliformes en période de tarissement chez les vaches laitières. Bulletin GTV., 4 : 9-16

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. 1996. « Current concepts of bovine mastitis », 4th edition édition.

NORBERG, E, H Hogeveen, IR Korsgaard, NCFriggens, KH Sloth, P Lovendahl. 2004.« Electrical conductivity of milk: ability to predict mastitis status ». *J. Dairy Sci.* 87,1099–1107.

PEARSON, JK, et DP Mackie. 1979. « Factors associated with the occurrence, cause and outcome of clinical mastitis in dairy cattle ». *The Veterinary Record* 105 (20): 456-463.

PASQUALATTO, D., ABBINANTE, F. Massive toxic exposure to contaminated food with *S. aureus*. *Toxicology letters*, 1998, **95** (1) : 158.

PAULRUD, CO. 2005.« Basic concepts of the bovine teat canal ». *Veterinary Research Communications* 29 (3): 215-245.

POMMET M ET ROGUINSKY M., 1968. Enquête sur les germes de mammites en 1968. Bull. acad.Vet, **41** : 213-221

POUTREL B. Généralités sur les mammites de la vache laitière : processus infectieux,

épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. *Rec. Méd. Vét.*, 1985, **161** (6-7),497-511.

RANUCCI, S., MORGANTE, M. Sanitary control of the sheep udder: total and differential cell count in milk. *In* :Barillet, F., Zervas, N.P. (Eds), Proceedings of the 6th International Selection on the Milking of Small Ruminants. Milking and milk production of dairy sheep and goats, Athens, Greece Wageningen Pers, The Netherlands, 1999, pp 5-13.

RAINARD, P, ET C RIOLLET. 2003. « Mobilization of neutrophils and defense of the bovine mammary gland ». *Reprod. Nutr. Dev.* 43 (5): 439-457.

RINALDI, M, RW Li, DD Bannerman, KM Daniels, C Evoke-Clover, MVB Silva, MJ Paape, B Van Ryssen, C Burvenich, et AV Capuco. 2010. « A sentinel function for teat tissues in dairy cows: dominant innate immune response elements define early response to E.coli mastitis ». *Functional & Integrative Genomics* 10 (1): 21-38.

ROOIJAKKERS, SHM, KPM van Kessel, et JAG van Strijp. 2005. « Staphylococcal innate immune evasion ». *Trends in Microbiology* 13 (12): 596-601.

SCHUKKEN, YH, BA Mallard, JC Dekkers, KE Leslie, et M Stear. 1994. « Genetic impact on the risk of intramammary infection following Staphylococcus aureus challenge ». *J.Dairy Sci* 77 (2): 639-647.

SCHUKKEN, YH, RN González, LL Tikofsky, HF Schulte, CG Santisteban, FL Welcome, GJ Bennett, MJ Zurakowski, et RN Zadoks. 2009. « CNS mastitis: nothing to worry about? » *Veterinary Microbiology* 134 (1-2): 9-14.

SEEGERS H, MENARD JL, FOURICHON C. Mammmites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. *Rencontres Rech. Ruminants*, 1997, **4**, 233-242

SEEGERS H, SERIEYS F. L'intervention du vétérinaire face à un problème demammites. 1- Questions de base et réponses possibles aujourd'hui. *Journées nationales GTV, Tours, 2002*, 139-145.

SCHWEIZER et GALL ST, 1983. Lutte systématique contre les mammites du bétail laitier Station fédérale de recherches laitières .section hygiène suisse

SIMEAO DO CARMO, L., SOUZA DIAS, R., ROBERTO LINARDI, V. et al.
Food poisoning due to enterotoxigenic strains of *Staphylococcus* present in Minascheese and raw milk in Brazil. *Food Microbiology*, 2002. **19** (1) : 9-14.

VIVIER, E, ET B MALISSEN. 2005. « Innate and adaptive immunity: specificities and signaling hierarchies revisited ». *Nature Immunology* 6 (1): 17-21.

WEISEN J.P. 1974:La prophylaxie des mammites : la stratégie de la lutte anti-mammites.-paris : Editions vigot frère.-**43-79p.**

ZIV G. Bonnes pratiques dans le traitement des mammites : choix du protocole idéal. Les antimicrobiens chez les bovins. *Société Française de Buatrie*, 1994, 219-233.