

**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 diplôme DE DOCTEUR
VETERINAIRE**

Sous le thème

***Diagnostic des mammites
subcliniques chez la vache laitière***

Présente Par:

Melle:HAOUDI NOUR ELHOUDA

Melle:SEHLI SOAD

Encadré Par:

Dr: AKERMI AMAR



INTRODUCTION

CHAPITRE I :DEFINITION ET CARACERISTIQUE DES MAMMITESSUBCLINIQUE

I-Définition et caractéristique des mammites subcliniques :

I_1 – Définition.....01

I- 2-Characteristiques des mammites subcliniques :

I-2-1-Etiologie et facteurs favorisants :.....01

I-2-2-Fréquence des bactéries impliquées :Facteurs favorisants05

I-2-3- Conséquences de l'infection :

I-2-3-1 : Les étapes de l'infection.....08

I-2-3-2 : Prolifération des bactéries dans la mamelle.....08

I-2-3-3 : Mécanismes de résistance de la mamelle.....08

I-2-3-4 L'équilibre cellule/bactérie issu de l'infection.....13

I-2-4 : Réduction de la qualité et de la production laitière :

I-2-4-1 : Evolution de la composition du lait.....15

I-2-4-2 : Chute de production laitière.....16

ChpitreII. IMPORTANCE DES MAMMITES :II.1. IMPORTANCE DES MAMMITES :

II.1.1.Médicale.....18

II.1.2. Hygiénique.....18

II.1.3. Technologique19

II.1.4. Economique.....19

CHAPITRE III DIAGNOSTIC DES MAMMITES SUBCLINIQUES

III.1.1. Diagnostic individuel des mammites subcliniques :

Sommaire

III.1.1.1. Techniques de numération cellulaire.....	20
III.1.1.1.1. Comptage cellulaire individuel	21
III.1.1.1.2. Fossomatic.....	21
III.1.1.1.3. Coulter-Counter	21
III.1.1.1.4 California Mastitis Test	22
III.1.1.1.5 Comparaison des différentes méthodes	26
III.2. Le diagnostic immunologique des mammites individuelles.....	27
III.2.1. Test immuno-enzymatique, ELISA.....	27
III.2.2.3. Hybridation moléculaire ou sondes	29
III.2.2.4. Test au latex	30
III.2.3. Diagnostic bactériologique des mammites subcliniques	30
III.2.4. Méthodes non immunologiques : Test avec de l'hémolymphe de limule.....	31
III.2.5. Modifications biochimiques de la composition du lait :	
III.2.5.1. Recherche d'enzymes	32
III.2.5.2. Le test de la catalase	32
III.2.5.3. Recherche des protéines.....	33
III.2.5.4. Le lactose	33
III.2.5.5. Les ions.....	33
III.2.6. Autres techniques de diagnostic :	
III.2.6.1. Techniques basées sur l'identification bactérienne.....	34
III.2.6.2. Technique basée sur la détection d'anticorps spécifiques dans le lait	35
III.2.6.3. Technique basée sur la biologie moléculaire.....	36

CHAPITRE IV : TRAITEMENT ET PROPHILAXIE

IV.1. Traitement :

IV.1. Traitement medicale.....38

IV.1.2. Autres traitements :

IV.1.2.1.Argilothérapie39

IV.1.2.2. Phytothérapie39

IV.1.2.3. Oxygénothérapie39

IV.1.3. Différentes voies de traitement :

IV.1.3.1. Traitement par voie générale39

IV.1.3.2. Traitement par voie galactophore40

IV.2. Prophylaxie :

IV.2.1. Procédure de traite41

IV.2.2. Contrôle de l'environnement :

IV.2.2.1. Alimentation43

IV.2.2.2. Logement43

IV.2.2.3. Stalles et logettes43

IV.2.2.4. Litière44

IV.2.2.5. Ventilation44

Liste des Tableaux

Tableau N°01 :clasification des bacteries impliqués dans les infection intramammaires (henry,2001).....	02
Tableau N°02 :les principauxbacteries responsables de mammites subcliniques	04
Tableau N°0 3 :paramètres d'interprétation du CMT.....	24
Tableau N°04 :lecture et notation du CMT et relation entre notation ,comptage cellulaire et lésions mammaires (sur lait individuel).....	25
Tableau N°05 :relation entre le taux cellulaire et les pertes en lait (Rodostits et Blood 1985).....	25
Tableau N°06 :relation entre score linéaire (LS),le CCI et pertes en lait	26
Tableau N°07 :évaluation du nombre de cellule en fonction de quantité de gaz produite.....	33

Listes des figures

Figure N°01 : principaux mécanismes d'activation intracellulaire

lord de l'inflmatin dans la mamalle.....11

Figure N°02 : role des cellules phagocitaires à s.aureus.....14

Figure N°03 : schéma 1,2,3,4,5 méthodologie de CMT.....23

Figure N°04 :technique Elisa de recherche d'anticorps.....27

INTRODUCTION :

La mammite est une maladie qui affecte un grand nombre des vaches laitières partout dans le monde.

Nous pouvons distinguer deux grandes classes parmi ces inflammations liés à des infections : la mammite clinique et la mammite subclinique. La particularité essentielle de cette dernière se traduit par l'absence visuelle de modifications de l'aspect du lait produit et de signes cliniques d'infection du parenchyme mammaire. La mammite subclinique se caractérise ainsi essentiellement par l'élévation de la concentration en cellules somatiques du lait (macrophages et polynucléaires neutrophiles).

Si l'inflammation liée à une mammite subclinique est plus modérée que celle des mammites cliniques, sa fréquence est nettement plus élevée (Rainard et Poutrel, 1982). En effet, la majorité des microorganismes stimulent moins fortement le système immunitaire « d'alerte » de la mamelle que ne le ferait *Escherichia. coli*, par exemple, et n'engendrent de ce fait que peu de signes cliniques pendant l'infection. Cette différence d'intensité de l'inflammation se traduit également au niveau de sa dynamique, plus lente dans son installation, mais beaucoup plus persistante dans la lactation.

Ainsi, en plus des difficultés de son diagnostic, la mammite subclinique est une inflammation souvent chronique au cours de la lactation et qui peut persister jusqu'au tarissement (Rainard et Poutrel, 1982).

La réforme et le traitement antibiotique au tarissement constituent actuellement les principales méthodes utilisées par les éleveurs pour éliminer ces infections intramammaires.

En effet, les mammites constituent l'une des pathologies les plus coûteuses en production laitière, à cause de l'altération de la production laitière, et du coût élevé des traitements. changements inflammatoires dans les glandes mammaires influencent le processus desynthèse du lait sur le plan qualitatif et quantitatif (HEESCHEN et REICHMUTH, 1995).

Introduction

Cette pathologie multifactorielle constitue le grand fléau économique pour l'éleveur producteur de lait. En effet, les pertes économiques, conséquences des mammites, sont diverses et variées. Elles englobent les coûts du traitement, les pertes de production, les reformes prématurées des vaches incurables et la détérioration de la qualité hygiénique et nutritive du lait et de ses produits dérivés.

CHAPITRE I :
DEFINITION ET
CARACTERISTIQUE
DES MAMMITES
SUBCLINIQUES

F-Définition et caractéristique des mammites subcliniques :

F-1-Définition:

Les mammites subcliniques se définissent en premier lieu par leurs étiologies (microorganisme responsable et éléments favorisants) puis par leurs expressions et ses conséquences. De part l'absence de modifications visuelles du lait et du chyme mammaire, différentes méthodes sont indispensables pour les diagnostiquer. Ces méthodes nous permettent donc de comparer l'efficacité de traitement pendant la lon de différents antibiotiques intramammaires afin d'évaluer leurs intérêts respectifs.

F-2- Caractéristiques des mammites subcliniques :

F-2-1-Etiologie et facteurs favorisants :

Le tableau n°1 répertorie les bactéries responsables d'infections intramammaire (Henry, 2001) : ces microorganismes très divers comme les coques ou les bacilles Gram + ou - présentent des propriétés biochimiques propres et des métabolismes très différents mais ont en commun la capacité à coloniser le milieu intramammaire.

Certaines bactéries comme les coliformes ou *Streptococcus uberis* se développent dans l'environnement (Bramley et Neave, 1975) et se multiplient dans la litière. D'autres comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* ou encore des mycoplasmes sont présentes sur l'animal et/ou dans la mamelle infectée. Si les mesures de désinfection ne sont pas totalement efficaces, le matériel de traite constitue alors un réservoir secondaire.

Ces microorganismes sont également divisés en 2 groupes selon l'intensité de la réponse inflammatoire qu'ils provoquent et leur capacité ou non à engendrer fréquemment des mammites cliniques (Rainard et Poutrel, 1982) :

Ces dernières ont souvent pour origine un agent infectieux classé comme « pathogène majeur » et présentent des concentrations cellulaires en moyenne très supérieures à celles des mammites subcliniques. Dans cette catégorie, certaines bactéries induisent facilement des mammites cliniques (*E. coli*, *Str. uberis*) tandis que d'autres sont plus fréquemment responsables de mammites subcliniques (*S. aureus*, *Str. dysgalactiae*) (Poutrel, 1985).

Les microorganismes classés comme « pathogènes mineurs » provoquent essentiellement des infections subcliniques caractérisées par des concentrations du lait en cellules somatiques peu élevées (Djabri et al, 2002).

Tableau 1 : Classification des bactéries impliquées dans les infections intramammaires (Henry, 2001)

coloration	FAMILLE	GENRE	ESPECE	FAMILLE «	
Coques Gram +	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i>	Staphylocoques	
			<i>S. hyicus</i>	Coagulase-Positi	
			<i>S. intermedius</i>		
			<i>S. auricularis</i>	Staphylocoques	
			<i>S. carnosus</i>		
			<i>S. capitis</i>		
			<i>S. caprae</i>		Coagulase-Négati
			<i>S. chromogenes</i>		
			<i>S. cohnii</i>		(SCN)
			<i>S. epidermidis</i>		
			<i>S. equorum</i>		
			<i>S. galinarum</i>		
			<i>S. haemolyticus</i>		
			<i>S. hominis</i>		
	<i>S. lentus</i>				
	<i>S. saprophyticus</i>				
	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>S. agalactiae</i>	Streptocoques	
			<i>S. bovis</i>		
			<i>S. canis</i>		
			<i>S. dysgalactiae</i>		
<i>S. uberis</i>			-		
<i>Lactococcus</i>			L. spp. ¹	-	
<i>Aerococcus</i>	<i>A. viridans</i>	-			
<i>Peptostreptococc</i>	<i>P. indolicus</i>	-			
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>M. luteus</i>	-		
		<i>M. lylae</i>			
		<i>M. roseus</i>			
		<i>M. varians</i>			
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i>	-		
		<i>E. faecium</i>	-		

SUITE TABLEAU 1:

GRAM	FAMILLE	GENRE	ESPECE	FAMILLE «
Bacilles Gram +	<i>Bacillaceae</i>	<i>Clostridium</i>	<i>C. perfringens</i>	-
		<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i>	
	<i>Actinomycetacea</i>	<i>Arcanobacterium</i>	<i>A. pyogenes</i>	-
	<i>Corynebacteriace</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>C. bovis</i>	-
	<i>Nocardiaceae</i>	<i>Nocardia</i>	1	-
Bacilles Gram -	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	Coliformes
		<i>Hafnia</i>	1	
		<i>Klebsiella</i>	1	
		<i>Citrobacter</i>	<i>C. heundii</i>	
		<i>Enterobacter</i>	E. spp. ¹	
		<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i>	
	<i>P. vulgaris</i>		-	
	<i>Serratia</i>	S. spp. ¹	-	
	<i>Pseudomonadace</i>	<i>Pseudomonas</i>	S. spp. ¹	-
	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>	B. spp. ¹	-
<i>Fusobacterium</i>		<i>F. necrophorum</i>	-	

Le tableau n°2 distingue les principales espèces bactériennes classées en « pathogènes majeurs » et en « pathogènes mineurs ». Ce classement n'a ainsi pour objectif que de préciser les microorganismes les plus impliqués dans les infections intramammaires au cours des vingt dernières années et de répertorier ceux qui peuvent être responsables à la fois de mammite clinique

Principaux microorganismes « majeurs »	Principaux microorganismes « mineurs »
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Streptococcus groupe D</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas</i> Autres entérobactéries <i>Arcanobacterium pyogenes</i> Mycoplasmes	Staphylocoques Coagulase-Négative <i>Corynebacterium bovis</i>

Tableau n°2 : Les principales bactéries responsables de mammite subclinique

F-2-2-Fréquence des bactéries impliquées :

Deux sources d'informations peuvent être utilisées pour établir la prévalence des bactéries impliquées dans les mammites subcliniques : les enquêtes épidémiologiques et sultats d'examens bactériologiques effectués avant traitement lors d'essais cliniques.

Nous avons sélectionné 4 études françaises publiées au cours des quinze dernières années. Toutes les quatre s'effectuent en élevages commerciaux, l'unité d'analyse étant le lait drier. Le tableau n°3 décrit pour ces 4 études les caractéristiques principales des populationorécise également la fréquence des bactéries responsables des mammites subcliniques.

La lecture du tableau 3 nous montre que les nombres d'élevages et d'échantillons et la localisation géographique entre ces études sont très différents tout comme la prévalence de l'infection. De plus les critères d'inclusion des vaches sont également propres à chaque étude. Le choix des élevages ,arbitraire également (les éleveurs autorisant obligatoirement l'essai) augmente encore la difficulté à comparer ces études entre elles et à en obtenir des conclusions généralisables à plus grande échelle. Il nous apparaît ainsi essentiel de définir des plans d'échantillonnages non générateurs de biais et reposant sur un nombre suffisant de cas pour valider les conclusions des études épidémiologiques sur la prévalence des microorganismes à l'origine de mammits subcliniques en France.

Selon ces études, les principaux microorganismes responsables de mammites subcliniques sont impliqués à des fréquences très variables. Les coques, principalement les staphylocoques et les streptocoques, sont cependant les microorganismes les plus représentés et sont ainsi responsables de la majorité des mammites subcliniques. *S. aureus* reste le microorganisme engendrant le plus fréquemment des mammites subcliniques

A)- Facteurs favorisants :

Facteurs liés au milieu lacté

Les bactéries responsables de mammite sont toutes capables de se multiplier dans le lait d'un quartier sain, milieu nutritif suffisamment riche pour assurer le développement concentrations importantes de microorganismes pathogènes.

Ali-Vehmas et al. (1997) constatent que certaines souches de *S. aureus* présentent des concentrations minimales inhibitrices pour la pénicilline-G 10 à 100 fois plus élevées dans le lait que dans un bouillon de culture et expliquent cette résistance autant par la formation de capsule par la bactérie dans le lait que par ses capacités d'agrégation aux globules gras du lait.

Les polynucléaires neutrophiles (PNN) constituent d'autre part mécanisme essentiel de défense contre les mammites. Leur efficacité bactéricide et phagocytaire est limitée dans le lait en raison principalement de 4 facteurs :

- Ces polynucléaires neutrophiles disposent de faibles réserves de glycogène à l'issue de leur migration, environ 38 % de celles des PNN du sang (Naidu et Newbould, 1973).

- Ils se retrouvent dans un milieu pauvre en réserves énergétiques directement assimilables : la

tension en oxygène est 100 fois plus faible dans le lait que dans du sang et le taux de glucose est très faible (Rainard, 1991).

La teneur en immunoglobulines, donc en opsonines est très faible dans le lait (Lascelles, 1979) et le C5a, facteur activé du complément permettant le recrutement des PNN, a une activité quasiment nulle dans le lait en raison des globules gras (Colditz et Maas, 1987)

Les polynucléaires effectuent, en outre une phagocytose non spécifique des globules gras et de

la caséine, ce qui, par conséquent, limite leur durée d'action des PMN (Paape et Guidry, 1977).

Facteurs liés à l'individu

Il existe des différences de sensibilité aux mammites subcliniques entre des vaches placées dans des conditions d'environnement identiques (Rainard et Poutrel, 1984). Des facteurs individuels liés aux caractéristiques physiologiques (capacité de production, vitesse de traite) et aux caractéristiques morphologiques de la mamelle et de ses trayons expliquent en partie ces différences de sensibilité. D'autres facteurs difficilement maîtrisables tels que les infections croisées ou l'âge des animaux peuvent également intervenir.

La fréquence de survenue des nouvelles infections de quartiers augmente avec le rang de lactation et diminue en fonction du stade de lactation, surtout entre le premier et le deuxième mois de lactation (Oliver et al., 1956). Dans le cas particulier d'infections expérimentales à *S. aureus*, la période au cours de laquelle se développent davantage d'infections persistantes se situe entre le deuxième et le quatrième mois de lactation (Poutrel et Lerondelle, 1980).

Nagahata (1988) constate que lors de la parturition et au début d'une forte production laitière, des taux élevés de glucocorticoïdes contribuent à une diminution du chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles, à une inhibition de leur phagocytose et à une réduction de la destruction intraleucocytaires des bactéries phagocytées ce qui implique une sensibilité accrue aux infections intramammaires. Par contre, pour Longo et al (1994) les concentrations du lait en cellules somatiques, révélatrices de l'inflammation sont indépendantes du stade de lactation. La pénétration des microorganismes dans la mamelle a lieu par voie diathélique, la voie endogène sanguine n'ayant à ce jour jamais pu être reproduite expérimentalement. Un effet barrière est exercé par le canal du trayon et dépend essentiellement de 3 de ses caractéristiques anatomiques : son sphincter, ses replis internes et l'épaisseur de sa couche de kératine. Le sphincter, muscle circulaire constitué de fibres lisses assure la fermeture du canal et son relâchement augmente les fuites de lait et le risque d'entrée de germes. Les nombreux replis internes du canal ralentissent la progression des germes et permettent à la kératine qui les recouvre d'exercer une activité bactéricide vis-à-vis, par exemple, de *S. aureus* et de *Str. agalactiae* (Serieys, 1989) et protectrice, vis-à-vis de ce dernier (Capuco et al, 1992). La desquamation superficielle de la kératine entraîne une diminution de l'épaisseur du canal et une augmentation de son diamètre.

Jorstad et al (1989) constatent une forte corrélation positive entre le diamètre du canal et le comptage cellulaire dans le lait ainsi qu'entre ce dernier et les lésions du trayon et les fuites de lait, facteurs promouvant la croissance des pathogènes de la mamelle.

Facteurs liés à la pression d'infection

L'établissement d'une infection persistante dépend peu de la quantité de microorganismes inoculés et est semblable pour des inoculums comprenant 20 à 200 *S. aureus* (Poutrel et Lerondelle, 1978).

La contamination de l'extrémité du trayon peut survenir entre les traites ou pendant la traite.

Dans le premier cas, les facteurs d'environnement tels que le logement, la litière et le climat jouent un rôle prépondérant sur la quantité de microorganismes présents (surtout les entérobactéries et certains streptocoques). Une surface de couchage faible par vache (< 6 m²), et une mauvaise accessibilité au couchage sont associées, en effet, à une élévation des concentrations en cellules somatiques du lait (Bareille et al, 1998).

De mauvaises pratiques de traite et/ou un matériel défectueux peuvent favoriser la survenue de mammites subcliniques. Les principaux mécanismes qui interviennent sont (Billon et al, 1998):

- la transmission « passive » de microorganismes pathogènes issus de

l'environnement,

provenant des mamelles de vaches infectées ou encore de lésions externes des trayons surinfectées (*S. aureus* les colonise facilement) à des vaches saines par les lavettes, les manchons trayeurs ou encore les mains du trayeur ;

- la diminution de l'efficacité des moyens de défense non spécifiques du trayon ;
- inverse, qui provoquent le passage des microorganismes à l'intérieur de la glande mammaire.

la contamination « active » pendant la traite dues aux fluctuations cycliques et irrégulières du niveau de vide, aux impacts de lait contre les extrémités des trayons et au gradient de pression

I-2-3 Conséquences de l'infection

I-2-3-1 : Les étapes de l'infection

Les différentes étapes de la mise en place d'une mammite d'origine bactérienne sont toujours les mêmes, seules leurs intensités diffèrent en fonction des microorganismes impliqués et des facteurs favorisants.

I-2-3-2 : Prolifération des bactéries dans la mamelle

Une fois la citerne du trayon atteinte, la bactérie doit rapidement se multiplier pour résister aux premiers mécanismes de défense de la mamelle et à l'effet vidange lors de la traite. Les vitesses de multiplication dépendent du germe impliqué et témoignent de différences d'adaptation dans la mamelle. Ainsi après infection expérimentale, Riollot et al (2000) constatent que *S. aureus* se multiplie beaucoup moins vite que *E. coli* et de manière différente suivant les vaches contrairement à *E. coli*. Au bout de 24 heures de 0 à 300 staphylocoques sont dénombrés, le pic de croissance étant atteint entre 2 et 11 jours. Cette caractéristique est une des différences essentielles entre une infection subclinique et une mammite clinique, siège d'un développement bactérien plus rapide.

L'envahissement progressif du système lobulo-alvéolaire, l'infection staphylococcique se localisant dans les canaux et les alvéoles sécrétoires (Anderson, 1982), s'accompagne de la production de toxines qui augmentent la réaction inflammatoire.

I-2-3-3 : Mécanismes de résistance de la mamelle

Nous pouvons distinguer 2 types de mécanismes de résistance : des mécanismes naturels déjà en place avant l'infection et des mécanismes immunitaires spécifiques ou non induits l'infection.

Parmi les mécanismes en place, nous pouvons distinguer des protéines à activité antibactérienne et des leucocytes (polynucléaires neutrophiles, macrophages, lymphocytes). Les différentes protéines non spécifiques telles que la lactoferrine, la transferrine, le système

lactoperoxydase/thiocyanate/peroxyde d'hydrogène, le lysozyme et le complément semblent cependant jouer un rôle très mineur dans l'élimination d'une infection pendant la lactation (Rainard, 1986). En effet, la lactoferrine et la transferrine, protéines fixant le fer indispensable à la croissance bactérienne et inhibées par le citrate sont présentes à de faibles concentrations comme le lysozyme, les staphylocoques et les streptocoques étant de plus insensibles à ce mécanisme de défense (Rainard, 1986). Le système lactoperoxydase/thiocyanate/peroxyde d'hydrogène inhibe la croissance de certains streptocoques (Reiter et al., 1963) mais nécessite la présence simultanée des 3 éléments, la concentration en ions thiocyanate dépendant du régime alimentaire. Le complément exerce, en plus d'une activité bactéricide, une activité chimiotactique pour les polynucléaires neutrophiles mais celle-ci devient quasi nulle au cours de la lactation (Reiter et Brock, 1975).

Les immunoglobulines, supports protéiques de l'immunité spécifique ont des activités effectrices spécialisées : opsonine pour les IgG2, antiadhésine pour les IgA et les IgM ou encore antitoxine pour les IgG. Elles sont cependant très spécifiques d'un antigène bactérien ce qui réduit leur champ d'action et leur quantité dans le lait est environ 50 fois inférieure à celle du sang (voir page 7).

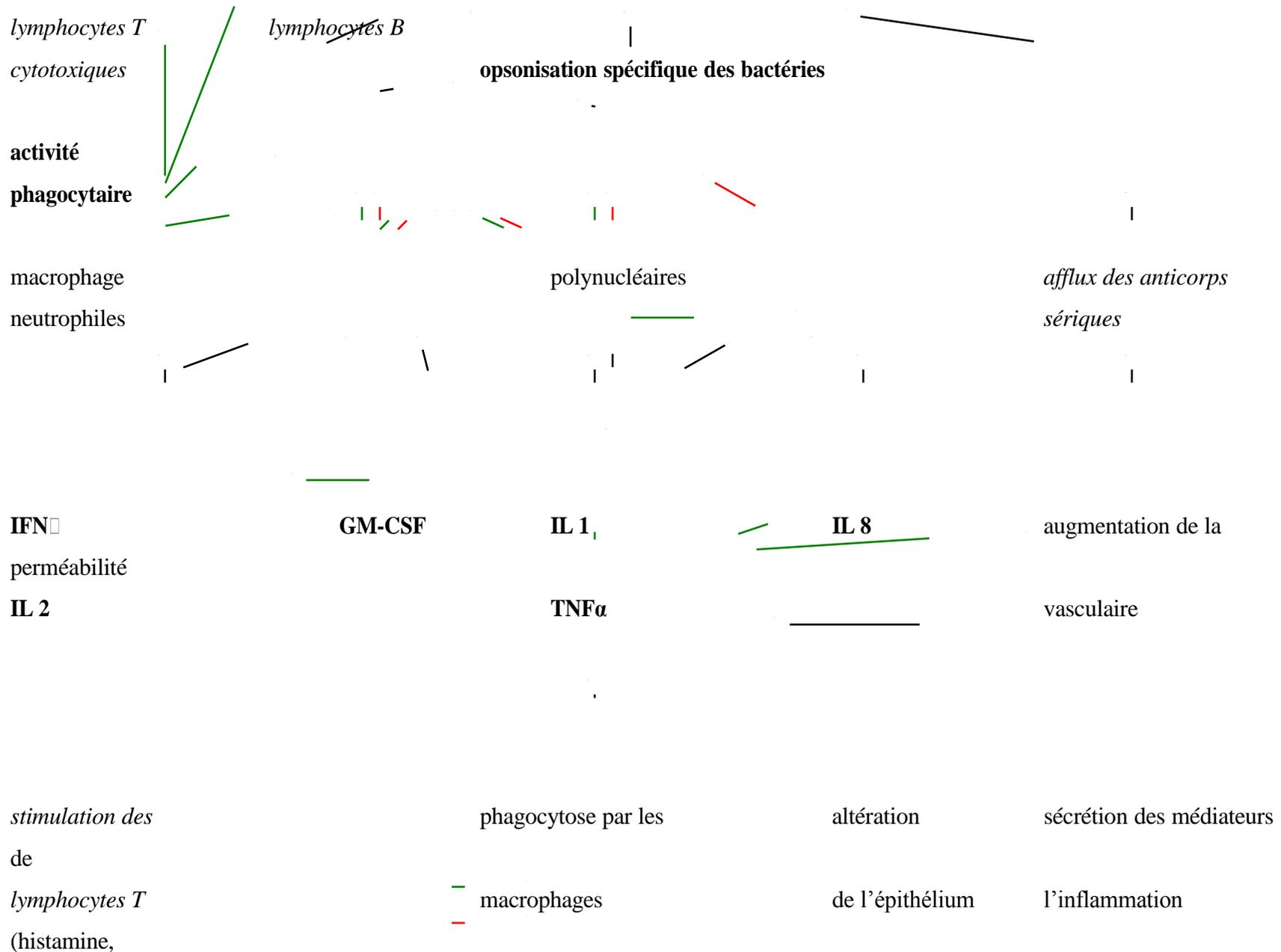
Les macrophages sont les cellules majoritaires dans le lait avant l'infection (Lee et al, 1980). La stimulation des macrophages et des cellules épithéliales soit par contact direct ds microorganismes (adhérence ou altération de l'épithélium sécrétoire ; phagocytose ds macrophages) soit par l'intermédiaire de métabolites irritants engendre la production de médiateurs indispensables au recrutement et à l'activation dans le lait des polynucléaires neutrophiles (Carroll et al, 1982) qui ont alors la capacité de se déplacer par chimiotactisme. Les mécanismes, spécifiques ou non, responsables de la migration des polynucléaires (facilitée par la structure polylobée de leurs noyaux) et de leur activation sont sous la dépendance d'une communication cellulaire complexe grâce à des cytokines pro inflammatoires telles que les interleukines, les interférons ou encore les facteurs de stimulation de colonies (Rainard, 1991 ; Sordillo, 1991 ; Persson et al, 1993). La figure n°1 (cf page suivante) explique les principaux axes de cette communication. L'inflammation du quartier s'accompagne de la migration des polynucléaires et de l'afflux de composants comme le complément, les immunoglobulines ou encore l'albumine. Les polynucléaires neutrophiles constituent le moyen essentiel de contrôle de l'infection en

représenta12

alors entre 90% et 95% des cellules immunitaires du lait infecté (Paape et al, 1979). L'issue d'une infection est donc conditionnée par l'ampleur et la rapidité du recrutement des polynucléaires, en témoignent les observations faites chez les individus neutropéniques.

En effet, contrairement aux éléments de la défense humorale, les polynucléaires s'attaquent à toutes les bactéries pathogènes. Si la présence d'opsonines (anticorps et complément) n'est pas une obligation absolue, une phagocytose efficace résulte de la coopération de récepteurs membranaires des polynucléaires, du fragment activé C3b du complément et des immunoglobulines (Rainard, 1991). L'augmentation des concentrations en opsonines IgM et IgG2 entraîne ainsi une activité phagocytaire accrue des polynucléaires (Miller et al, 1988). Après ingestion, un système oxygène-dépendant et un autre composé de défensines et d'enzymes bactéricides permettent de tuer la bactérie. L'efficacité de la phagocytose dépend donc de plusieurs facteurs : les capacités de résistance de la bactérie, les quantités et la qualité des opsonines présentes et le niveau de stimulation des polynucléaires.

D'un point de vue cinétique, dans le cadre de l'infection expérimentale à *S. aureus* réalisée par Riollet et al (2000), l'augmentation de la concentration en cellules n'est observée qu'entre 24 et 48 heures, les maxima n'étant atteints qu'entre 2 et 14 jours. Cette phase de latence et le décalage entre les pics de bactéries et de cellules peuvent s'expliquer par un manque de reconnaissance de la présence de la bactérie et par le temps nécessaire au processus de migration des cellules.



bradykinine,
prostaglandines)

multiplication bactérienne
□ sécrétion de toxines et
de facteurs antiphagocytaires
complément, Ig)

pénétration des germes
dans la mamelle

action constitutive de
limitant le développement
bactérien(lactoferrine,

Figure n°1 : Principaux mécanismes d'activation intercellulaire lors de l'inflammation dans la mamelle

(en italique effecteurs spécifiques de l'immunité)

mécanismes de stimulation

mécanismes de recrutement

I-2-3-4 L'équilibre cellule/bactérie issu de l'infection

Le développement et/ou la persistance d'une mammite dépend de l'interaction entre les bactéries invasives et le système de défense de l'hôte, principalement des cellules phagocytaires. L'intensité de la réaction inflammatoire, très variable, est sous la dépendance de la virulence des bactéries et des antécédents immunologiques de l'animal. Souvent, surtout dans le cadre des infections staphylococciques, l'élimination des microorganismes n'est pas totale et s'installe alors un équilibre dynamique entre la population bactérienne et les défenses cellulaires de la mamelle : l'infection devient alors chronique et subclinique. Dans le cadre des infections à *Staphylococcus aureus*, le nombre de bactéries isolées à partir de lait provenant de quartiers infectés n'est pas constant au cours du temps (Sears et al, 1988). Il varie, en effet, de manière cyclique et inversée par rapport à la concentration cellulaire du lait (Daley et al, 1991) comme l'indique la figure n°2.

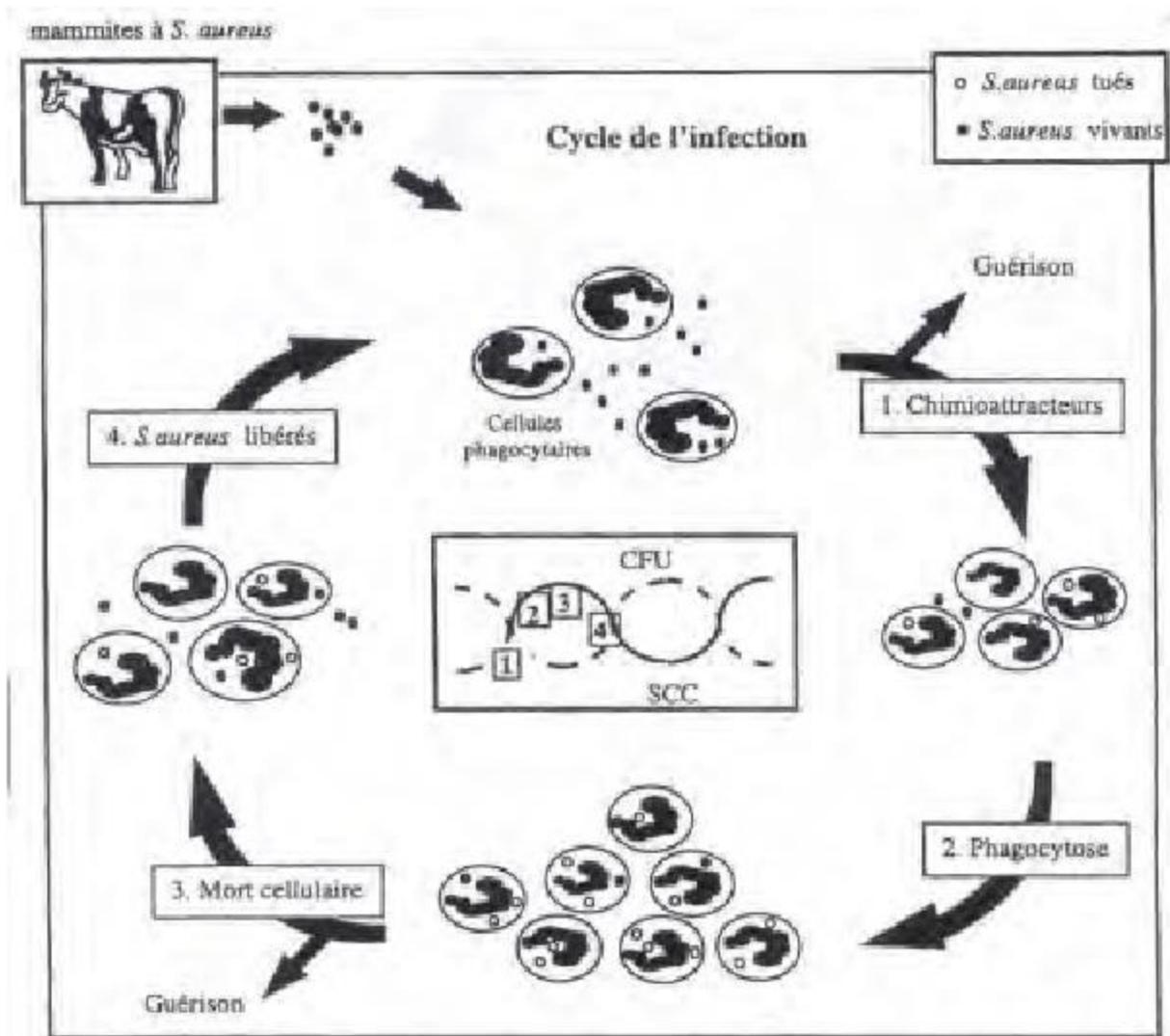


Figure n°2 : Rôle des cellules phagocytaires à *S. aureus* (D'après Daley et al, 1991)

CFU : unité formant colonie

SCC : concentration en cellules somatiques

Plusieurs facteurs défavorables peuvent expliquer la persistance de l'infection :

- Postle et al (1978) sélectionnent ainsi 5 souches de *S.aureus* sur 12 capables de produire avec un haut degré de répétabilité des mammites subcliniques. *S.aureus* développe des foyers infectieux dans la mamelle la rendant moins accessible ax

cellules immunitaires (Anderson, 1982) et peut adhérer à l'épithélium intramammaire résistant ainsi à l'effet vidange lors de la traite (Frost, 1975), résistance permise également par la flottation avec la crème des microorganismes dans le lait de la mamelle (Sandholm et al, 1989). De plus, certaines souches survivent à l'intérieur des macrophages et des polynucléaires neutrophiles qui deviennent des sites de protection et n'initient plus alors de réaction inflammatoire (Poutrel, 1985). Cette dernière crée aussi des conditions de croissance plus favorable aux microorganismes avec la libération, par exemple, des produits de l'hydrolyse de la caséine (Mattila et al, 1990).

- La réaction inflammatoire est un processus dynamique et les sécrétions des cellules immunitaires ont un fort potentiel toxique pour le tissu local minimisé toutefois par le rôle inhibiteur de certains composés comme le TNF- α qui induit également l'apoptose des polynucléaires neutrophiles (Takeda et al, 1993) : les polynucléaires en phagocytose engendrent des dommages à l'épithélium mammaire supérieurs à ceux des polynucléaires intacts et contribuent à l'auto entretien de l'inflammation.

I-2-4 : Réduction de la qualité et de la production laitière

I-2-4-1 : Evolution de la composition du lait

S'il existe un risque de zoonose avec des microorganismes tels que *S. aureus* ou *L. monocytogenes* lors de la consommation de lait cru issu de vaches infectées, ce sont la modification de la qualité biochimique du lait issu de quartiers atteints de mammites subcliniques qui pose des problèmes à l'industrie laitière et surtout l'augmentation de la concentration en cellules somatiques qui diminue la qualité du lait et son aptitude à être utilisée à des fins industrielles.

Dans le cadre du suivi d'un troupeau expérimental Rainard et al (1990) rendent responsables les pathogènes majeurs de 46,6 % de la concentration cellulaire du troupeau et les pathogènes mineurs de 19,3 %, le reste (34,1 %) étant attribué au niveau cellulaire de base des quartiers non infectés. Ces valeurs ne peuvent en aucun cas être généralisables mais rappellent juste l'importance majeure des infections intramammaires subcliniques sur la concentration en cellules somatiques du lait de troupeau.

Trois mécanismes en relation avec l'augmentation de la concentration cellulaire expliquent chez les bovins les changements importants de composition du

lait : l'augmentation de la protéolyse endogène des caséines, la diffusion de composants variés dus au lait tels que des globulines lors de l'inflammation et la baisse de synthèse de certains composés liée à l'altération de l'épithélium mammaire lors de l'infection qui entraînent notamment une baisse du taux de lactose dans le lait compensée par osmose par l'augmentation des concentrations en ions sodium et chlore. Lors d'infection expérimentale à *S. aureus*, Michelutti et al (1999) attribuent la protéolyse à la plasmine et aux enzymes des cellules somatiques durant les 7 premiers jours.

Les autres quartiers non infectés subissent de légères variations de la concentration en cellules somatiques mais présentent cependant une protéolyse significative d'origine strictement endogène liée à la plasmine. Ce dernier phénomène implique une modification de la perméabilité de l'épithélium mammaire des quartiers non infectés et traduit une réponse systémique de l'organisme suite à l'infection d'un seul quartier. Le taux en protéines vraies du lait individuel peut alors baisser jusqu'à 12 %.

I-2-4-2 : Chute de production laitière

L'altération de l'épithélium mammaire engendre des pertes de production laitière. Il existe ainsi une corrélation négative significative entre la numération cellulaire du lait et la production du lait (Raubertas et Shook, 1982). Par analyse histologique, Owens et al (1994) montrent que les quartiers sièges d'une infection à *S. aureus* d'au moins 2 mois, présentent moins de tissu alvéolaire producteur de lait et plus de tissu conjonctif interalvéolaire que les quartiers non infectés.

Pour les vaches infectées durablement (2 diagnostics mensuels concordants) par un pathogène majeur comme *S. aureus*, Serieys (1985b) constate une perte moyenne de 881 kg de lait par lactation pour chaque augmentation de un point de l'unité logarithmique de la concentration cellulaire et, d'une manière générale, une baisse moyenne de 396 kg de lait par lactation lors d'une infection.

Woolford et al. (1983) observent cependant pour les vaches multipares une compensation partielle de cette perte lors d'infection à *S. aureus* par une augmentation de la production des quartiers non infectés.

L'évaluation de cette perte de production due aux mammites subcliniques peut aussi être estimée à partir du comptage cellulaire du tank (Seegers et al, 2000), celui-ci représentant la moyenne des concentrations cellulaires individuelles pondérées par les productions individuelles. Les variables qualitatives à 2 ou plusieurs modalités comme la guérison ou l'amélioration cytologique marquée de quartier. De même nous avons utilisé des modèles de régression multivariée pour mettre en évidence d'éventuelles relations entre des variables qualitatives indépendantes comme le numéro de lactation ou le stade de lactation et les variables qualitatives de guérison ou d'amélioration cytologique marquée.

Nous avons utilisé aussi des tests de comparaisons appariées entre les valeurs de CCSI du dernier contrôle avant traitement et les valeurs de CCSI 40 jours après traitement pour évaluer ses modifications consécutives au traitement d'un ou de plusieurs quartiers infectés.

Pour tous les tests réalisés, nous retenons que la valeur de p devra être inférieure à 0,05 (valeur conventionnelle) pour rejeter de manière significative

l'hypothèse d'indépendance entre les variables analysées. Entre 0,05 et 0,10, nous considérerons qu'une tendance relie les 2 variables analysées. Si p est supérieur à 0,10, nous retiendrons l'hypothèse d'indépendance entre les 2 variables.

**CHAPITRE II :
IMPORTANCE DES
MAMMITES.**

II.1. IMPORTANCE DES MAMMITES :

II.1.1. Médicale

Les mammites sont responsables d'une morbidité très grande dans les troupeaux laitiers.

Selon CHAFFAUX et STEFFAN (1985), en France, toutes les étables étaient touchées par l'infection mammaire. Selon les troupeaux, 5 à 70 % des vaches étaient atteintes de mammites et 10 % des vaches présentaient chaque année, au moins une fois, une mammite clinique.

De plus, certaines mammites sont mortelles, c'est le cas des mammites gangréneuses à *Nocardia*, ou des mammites colibacillaires (POUTREL, 1985).

II.1.2. Hygiénique

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 (BRADLEY, 2002 ; SEEGERS et al., 1997). En effet, selon POUTREL (1985), le lait « mammitique » peut être vecteur d'agents responsables de toxi-infections alimentaires (*Salmonella*, *Listeria*, etc.).

D'après les études réalisées par LE ROUX (1999), parmi les bactéries les plus impliquées dans les intoxications alimentaires par ingestion des produits laitiers, on peut noter :

- *Staphylocoques dorés* (toxines) : Les toxines se trouvent dans les laits crus et pâte molle au lait cru et peuvent entraîner des troubles digestifs graves. Environ 38% des toxi-infections alimentaires présumées à *S. doré* sont dues à des produits laitiers.
- *Listeria* : Les formes graves de listériose peuvent entraîner des avortements, méningites, et sont parfois mortelles chez l'Homme.
- Coliformes et Salmonelles : Ils entraînent des troubles digestifs.

En dehors de l'interférence dans la transformation de certains produits laitiers, les résidus d'antibiotiques dans le lait sont potentiellement néfastes pour la santé humaine. C'est le cas des résidus de Pénicilline qui peuvent entraîner des réactions cutanées chez des sujets qui lui sont allergiques (LEBRET et al., 1990).

De fait, en l'absence de pasteurisation, des germes pathogènes pour l'Homme provenant de quartiers infectés peuvent contaminer les produits laitiers (BRADLEY,

2002 ; SEEGER *et al.*, 1997).

II.1.3. Technologique

Lors de mammites, les modifications physicochimiques et biologiques du lait diminuent sa qualité technologique et perturbent les processus de sa transformation. Ceci a pour conséquence, une diminution du rendement fromager, une modification de la texture, du goût et de l'odeur (SERIEYS, 1985b). De même, la persistance des antibiotiques dans le lait après le traitement des mammites, provoque une inhibition de la flore lactique entraînant un mauvais égouttage et l'invasion par la flore colibacillaire et par les moisissures.

II.1.4. Economique

Les mammites constituent le trouble sanitaire le plus fréquent et aux plus fortes répercussions économiques en élevage bovins laitiers (POUTREL, 1985 ; SEEGER *et al.*, 1997). Ceci tient principalement du fait de leur fréquence, des frais vétérinaires qu'elles entraînent (honoraires, coût des traitements) et de leurs répercussions 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 caséines, 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 (POUTREL, 1985).

La mammite subclinique est encore plus coûteuse. En effet, elle s'installe de façon silencieuse, avec des infections chroniques au sein du troupeau. Elle contamine d'autres sujets, augmente le risque de mammites cliniques, cause une diminution de la production et finalement engendre des pertes monétaires directes liées aux pénalités et à l'augmentation de la réforme involontaire.

Enfin, l'impact économique résulte de la somme des coûts des actions de maîtrise (traitements et préventions) et des pertes.

CHAPITRE III :
DIAGNOSTIC DES
MAMMITES SUB

III.1. DIAGNOSTIC DES MAMMITES SUBCLINIQUES

III.1.1. Diagnostic individuel des mammites subcliniques

Le diagnostic des mammites subcliniques repose d'une manière générale sur la mise en évidence des conséquences cellulaires (modifications cytologiques), chimiques, et finalement bactériologiques de l'état inflammatoire de la mamelle (Nielen et al., 1992).

Il est basé sur : la numération cellulaire du lait, les méthodes de dépistage chimique, l'examen bactériologique (Radostitis et al., 1997).

III.1.1.1. Techniques de numération cellulaire

La numération des cellules somatiques du lait peut s'appliquer indifféremment à des échantillons de lait de quartier, de lait individuel (mélange des laits des quatre quartiers) ou de lait de troupeau (mélange des laits individuels dans le tank).

Les comptages microscopiques sur lames constituent la méthode de référence mais elle n'est pas automatisable et ne peut être appliquée à grande échelle. Dans la pratique, on utilise des méthodes instrumentales qui réalisent un comptage électronique de particules (Coulter Counter de Coulter Electronics ou Auto-Analyser de Technicon) ou de noyaux cellulaires rendus fluorescents (Fossomatic de Foss Electric). En France, seuls le Coulter Counter et le Fossomatic sont utilisés, ce dernier appareil représentant près de 80% d'un parc de 40 appareils environ. Ces méthodes automatiques ont permis de généraliser à l'ensemble des producteurs des numérations cellulaires mensuelles sur le lait individuel, notamment chez des adhérents du Contrôle Laitier.

Le prélèvement des échantillons de lait en vue de la numération cellulaire n'a pas besoin d'être réalisé dans des conditions d'asepsie, et ne pose donc pas de problèmes particuliers. Bien entendu, l'échantillon doit être représentatif, ce qui suppose une agitation suffisante du lait avant prélèvement, notamment dans le cas des tanks. Les échantillons doivent être conservés au froid avant analyse, mais la congélation est exclue car elle entraîne la destruction d'une partie des cellules et fausse le résultat. Enfin, une estimation indirecte du nombre des cellules dans le lait des quartiers peut être obtenue par un test chimique très simple comme le CMT (California Mastitis Test) qui peut être réalisé à l'étable et donne un résultat immédiat (Serieys, 1985).

III.1.1.1.1. Comptage cellulaire individuel

Le comptage direct au microscope a été délaissé au profit du comptage électronique plus rapide réalisé sur le lait de mélange des quatre quartiers de chaque vache du troupeau (CCI : Comptage Cellulaire Individuel), réalisé dans le cadre

- Du contrôle laitier (prélèvements mensuels) ou
- D'un plan de prophylaxie des mammites (Serieys, 1985).

III.1.1.1.2. Fossomatic

Le Fossomatic peut être défini comme un microscope automatique à fluorescence. Les noyaux des cellules du lait sont rendus fluorescents par un colorant, le bromure d'éthidium, qui se fixe sur l'ADN. Après cette coloration, le lait est étalé sous forme d'un film très fin de 10 microns d'épaisseur sur le pourtour d'un disque rotatif qui sert de porte objet pour le microscope. Chaque noyau, excité par la lumière d'une lampe au xénon, renvoie une lumière rouge qui est captée par le microscope lorsque le noyau passe sous l'objectif. Ces émissions de lumière sont transformées en signaux électriques qui sont comptabilisés (Serieys, 1985).

Ce système ne détecte à peu près que les cellules inflammatoires puisque les amas de caséine et les particules inertes ne fixent pas le colorant fluorescent. Les bactéries ont un ADN plus diffus qui émet une lumière moins intense. L'appareil est calibré pour ne pas enregistrer ces signaux de plus faible intensité. Ce système permet l'analyse de 180 prélèvements par heure. Les prélèvements doivent au préalable être homogénéisés par agitation (Hanzen et Castaigne, 2002).

III.1.1.1.3. Coulter-Counter

Le Coulter-Counter totalise les impulsions électriques qui résultent du passage de particules à travers un orifice situé entre deux électrodes. Quand une particule passe par l'ouverture, la résistance entre les 2 électrodes est modifiée, produisant une impulsion électrique proportionnelle au volume de la particule. Avant de réaliser le comptage, il est nécessaire de disperser les globules gras ayant un volume comparable à celui des cellules : un conservateur à base de formol agissant 16 à 26 heures permet de rendre les cellules résistantes à l'action d'un mélange tensio-actif qui dissout la matière grasse à chaud. L'appareil est calibré de telle façon que les particules (bactéries, particules diverses) d'un diamètre inférieur à celui des cellules ne soient pas comptées (Serieys, 1985). Le système permet d'analyser 80 échantillons par heure (Hanzen et Castaigne, 2002).

Il semble bien que pour des numérations supérieures au million de cellules, le Coulter Counter donne des résultats plus faibles que le Fossomatic. L'inverse est vrai pour des concentrations inférieures à 500. 000 cellules. La mesure du Coulter Counter est moins spécifique que celle du Fossomatic qui ne compte que les cellules dont le noyau est intact et donc néglige les poussières et particules diverses qui peuvent se mêler à l'échantillon lors de son prélèvement (Hanzen et Castaigne, 2002).

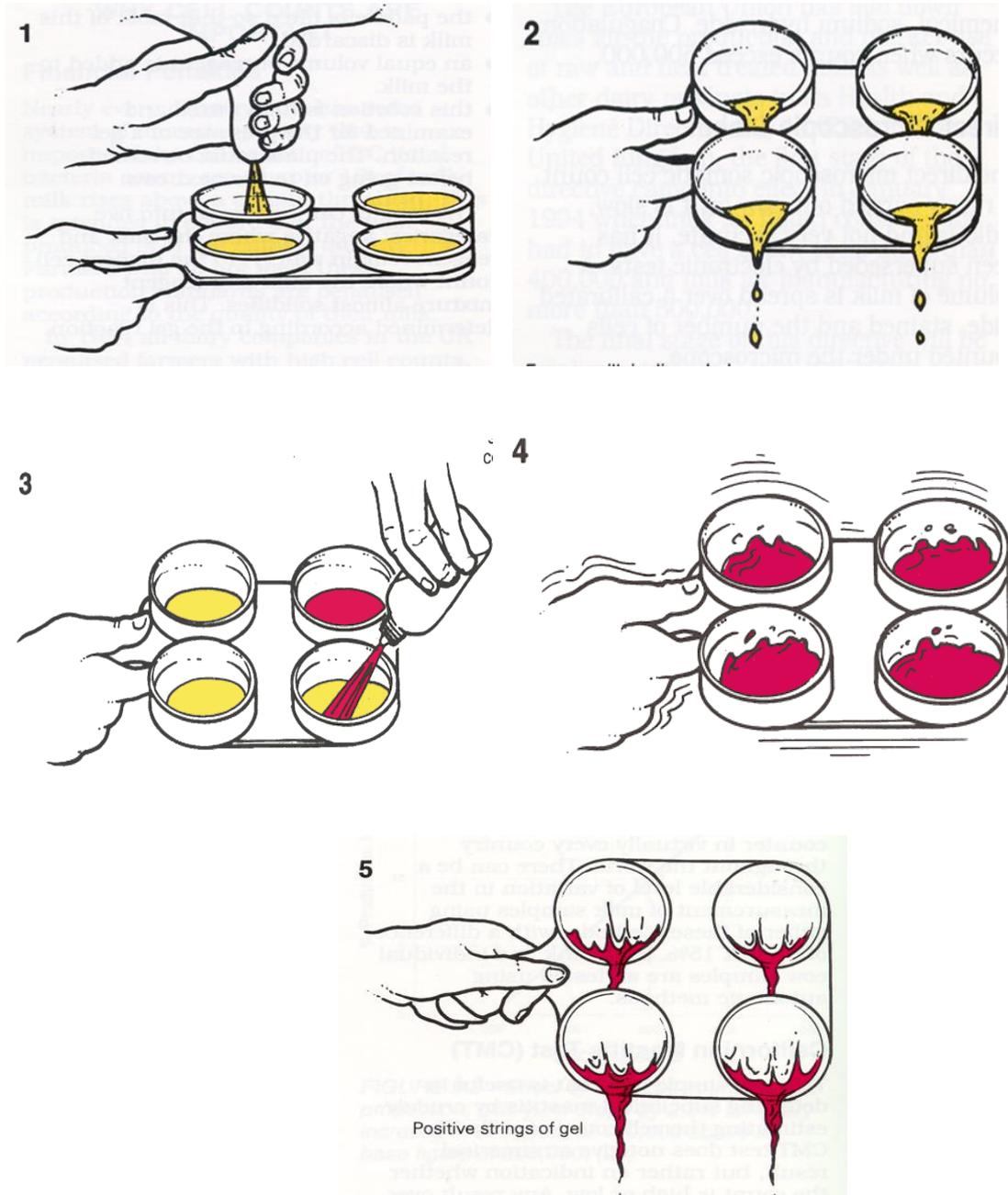
III.1.1.1.4 California Mastitis Test

Un réactif tensio-actif à base de Teepol du commerce mélangé à un échantillon de lait réagit avec l'ADN contenu notamment dans le noyau des cellules somatiques. Il se forme un précipité dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellules de l'échantillon (Serieys, 1985). Le Californian Mastitis Test (CMT) encore appelé Schalm test est le plus pratique et le plus répandu. Le principe de ce test est le suivant :

- Le mélange à parties égales de lait et d'un agent tensioactif (solution de Na-Teepol renfermant 96 g de Na-Lauryl-Sulfate / 5 litres) 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 floccula 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. (Hanzen et Castaigne, 2002).

➤ Réalisation du test

Après lavage, essuyage et extraction des premiers jets de lait des quatre trayons, l'opérateur remplit chaque coupelle d'un plateau (qui en comporte quatre), avec 2 ml de lait et 2 ml de 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 (Hanzen et Castaigne, 2002).

➤ Méthodologie du CMT**Figure n°03 : Schéma 1, 2, 3, 4, 5 méthodologie du CMT****Ch. Hanzen 1^{er} doc 2005-2006**

Il existe différentes clés d'interprétation de ce test (Tableau n°4, 5, 6, 7) 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).

Il ne doit pas être réalisé sur le colostrum ou la sécrétion de période sèche. (Hanzen et Castaigne,

2002).

➤ **Interprétation du test :**

Tableau n°4: Paramètres d'interprétation du CMT

(Schalm et Noorlander 1957; Schneider et al., 1966).

CMT	Interprétation	CCI (cellules x 1000 /ml)	CCI (cellules x 1000/ml)
-	Mélange liquide sans précipitation	0-200	40 – 200
Traces	Floculat léger visible par transparence disparaissant après une dizaine de secondes	150-500	200 – 600
1	Floculat visible par transparence, persistant	400-1. 000	500 – 2. 700
2	Epaississement immédiat avec début de gélification et adhérence au fond en filaments visqueux	800-5. 000	1. 700 – 8. 000
3	Formation d'un gel épais (blanc d'œuf)	> 5. 000	> 8. 000

Tableau n°5: Lecture et notation du CMT et relation entre notation, comptage cellulaire et lésions mammaires (sur lait individuel) d’après Schalm et Noorlander ,1957.

Réaction	Couleur	Notation	Résultats		Mamelle	
			pH	Taux cellules/ml	Intensité de l’inflammation	Lésions
Aucun flocculat	Gris	0 ou -	6. 5	200.000	Néant	Mamelle saine ou infection latente
Léger flocculat transitoire	Gris	1 ou +/-	6,6-6,7	200.000-500.000	Inflammation légère	Mamelle chez une vache à sa 7 ^{ème} lactation
Léger flocculat persistant	Gris-violet	2 ou +	6,7-6,8	500.000-1.000.000	Inflammation d’origine traumatique ou infectieuse	Mammite subclinique
Flocculat épais adhérent	Violet	3 ou ++	6,8-7,0	1.000.000-5.000.000	Inflammation étendue	Mammite subclinique et infection bien installée
Flocculat type blanc d’œuf gélification	Violet foncé	4 ou +++	+ de 7	Plus de 5.000.000	Inflammation intense	Mammite clinique

Tableau n° 6: Relation entre le taux cellulaire et les pertes en lait (Radostits et Blood 1985)

CMT	Interprétation	CCI (cellules / ml)	Pertes en lait (% de la lactation)
-	Aucun flocculat	0 -200 000	-
Traces	Légères traces	150 -400 000	6
1	Flocculat léger, persistant	300 -1000 000	10
2	Flocculat épais, adhérent	700 -2000 000	16

3	Gel épais (blanc d'œuf)	>2000 000	25
----------	-------------------------	-----------	----

Tableau n°7 : Relation entre le score linéaire (LS), le CCI et les pertes en lait

(Raubertas et Shook J. Dairy Sci, 1982)

LS	CCI x 1000	Médiane	Pertes / jour en litres		Pertes en 305 jours (litres)	
			primipare	pluripare	primipare	pluripare
0	0-17	12.5	-	-	-	-
1	18-34	25	-	-	-	-
2	35-68	50	-	-	-	-
3	69 - 136	100	0.75	1.5	100	200
4	137 - 273	200	1.5	3	200	400
5	274 - 546	400	2.25	4.5	300	600
6	547 - 1092	800	3	6	400	800
7	1093 - 2185	1600	3.75	7.5	500	1000
8	2186 - 4371	3200	4.5	9	600	1200
9	>=4372	6400	5.25	10.5	700	1400

III.1.1.1.5 Comparaison des différentes méthodes

Les deux méthodes de numération électronique donnent des résultats proches. Ce sont des méthodes très fidèles avec des coefficients de variation de moins de 5% qui sont bien meilleurs que ceux obtenus avec la méthode de référence par comptage microscopique (15% environ). Dans ce cas, en effet, l'erreur humaine est difficilement évitable et se trouve considérablement amplifiée par l'utilisation de coefficients multiplicateurs élevés correspondant aux dilutions. A condition que l'étalonnage et le calibrage des appareils soient réalisés, la justesse des mesures réalisées avec l'un ou l'autre appareil est très bonne. On peut noter toutefois que pour les numérations élevées, supérieures 1 000 000 cellules /ml, le Counter-Counter donne des résultats plus faibles que le Fossomatic et que la méthode de référence, alors que pour les faibles numérations, inférieures à 100 000 cellules/ml, c'est l'inverse qui se produit.

Le CMT doit être considéré à part, car si cette méthode indirecte est assez peu précise, elle est la seule à pouvoir être mise en œuvre à l'étable (Serieys, 1985).

III.2.Le diagnostic immunologique des mammites individuelles

III.2.1. Test immuno-enzymatique, ELISA (Grove, 1992 ; Sarradin, 1991 ; Scott Adams, 1988 ; Veecht, 1995).

➤ Principes généraux des méthodes ELISA par recherche d'anticorps

D'après Sarradin des anticorps dirigés contre *Staphylococcus aureus*, *E coli*, *Salmonella*, *Brucella*, les Mycoplasmes ont été détectés dans du lait entier ou du lactosérum.

La spécificité de la recherche d'anticorps dépend de l'antigène utilisé : elle est meilleure avec un antigène purifié qu'avec des bactéries entières.

La figure 2 ci-après représente les différentes étapes de la technique dans un puits d'une microplaque

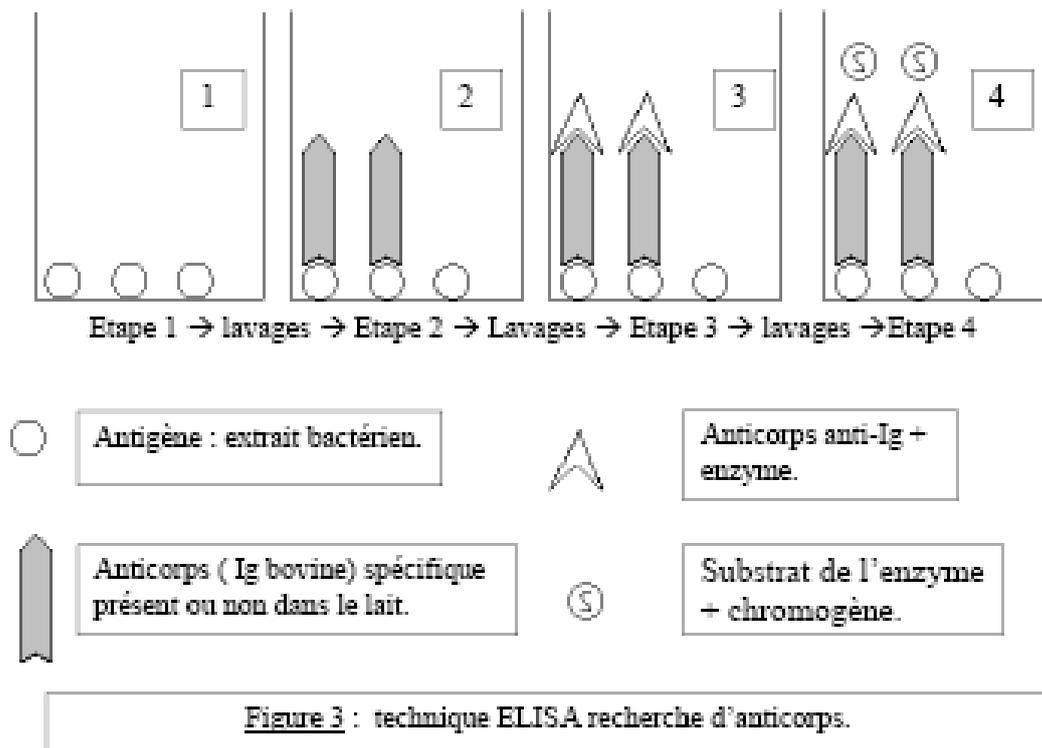


Figure n°04 : Technique ELISA de recherche d'anticorps.

➤ **Principes généraux des méthodes ELISA par recherche d'antigènes**

Le principe de recherche des antigènes est proche de celui décrit pour les anticorps, c'est un ensemble de réactions antigènes anticorps et de la révélation finale de ces réactions par une réaction colorée, catalysée par une enzyme.

➤ **Avantages et inconvénients de ces techniques**

Ces techniques sont :

- Peu coûteuses en réactifs, elles sont adaptables sur microplaques et ainsi ne demandent pas plus de 0.2 ml de réactifs.
- Assez rapides : 2 heures pour les plus rapides (recherche d'anticorps).
- Leur seuil de détection est bas, donc la sensibilité bonne.
- Enfin elles sont très spécifiques à condition d'utiliser des antigènes purifiés ou des anticorps monoclonaux.
- Enfin les principes de ces méthodes sont déjà couramment utilisées en bactériologie.

➤ **Exemple d'une technique ELISA le Pro Staph I et son évaluation**
(Grove, 1992 et Veecht, 1995).

Ce test, commercialisé au Etats-Unis, détecte des IgG, anticorps dirigés contre des protéines de la paroi des *Staphylococcus aureus*.

La sensibilité du ProStaph I selon Grove (Grove T. M, Jones G. M1992) est de 90%, la spécificité de 97%. La valeur prédictive d'un test positif est de 82%, la valeur prédictive d'un test négatif de 95%.

III.2.2. Test de l'anneau (Sandholm et al., 1989 ; Sarradin ,1991 et Bodin g).

➤ **Principe**

Ce test est une adaptation de la technique du Ring Test appliquée à la recherche de la brucellose.

➤ **Technique**

A l'échantillon de mammite, il est rajouté des antigènes marqués soit par un colorant (Ring Test brucellique) soit par un isotope radioactif du Se^{71} pour l'étude de Sandholm (Sandholm M, et al., 1989). Ces antigènes peuvent être une bactérie responsable de mammite comme *Staph aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *E. coli*, *Streptococcus dysgalactiae* ou *Streptococcus uberis*. Les IgA et IgM sont pour parties liées aux globules gras du lait, donc ils se retrouvent dans la crème. Ainsi ces immunoglobulines spécifiques d'une bactérie particulière X se concentrent dans la crème. Un marqueur relié à un antigène X se retrouve lié aux anticorps, eux-mêmes liés aux globules gras de la crème. Tandis qu'un antigène Y ne se lie pas avec l'anticorps X et donc reste en suspension dans le lait. Pour Sandholm le marqueur est un isotope radioactif que les bactéries (les antigènes) ont métabolisé (elles ont été préalablement cultivées dans un milieu contenant cet isotope radioactif).

➤ **Evaluation**

Ce test de l'anneau rassemble certains avantages : il est rapide, de coût réduit, automatisable et simple. En plus, comme tous les tests mettant en évidence des anticorps, il ne nécessite pas de prélèvement aseptique du lait. Cependant il manque de spécificité et de sensibilité (Sarradin, 1991) et a pour inconvénient majeur la lourdeur de la technique d'analyse.

III.2.2.3. Hybridation moléculaire ou sondes

➤ **Principe**

L'hybridation moléculaire est plus récente mais aussi la plus lourde des techniques. Elle consiste à identifier une fraction du génome de la bactérie à l'aide d'une sonde c'est-à-dire d'un fragment d'ADN ou d'ARN complémentaire de cette fraction (Hanzen et Castaigne, 2002).

➤ **Technique**

Après séparation physique (chaleur) ou chimique (soude) de l'ADN ou de l'ARN bactérien, on obtient des fragments d'ADN ou d'ARN monobrin. Ces fragments sont fixés sur un support. Ce support est alors mis en contact avec une sonde génomique marquée. Si les fragments d'ADN correspondent, il y a alors hybridation de la sonde avec de l'ADN bactérien. Après plusieurs

rinçages, l'hybridation est révélée par le système approprié (autoradiographie si l'ADN est marqué par un isotope radioactif ou par une réaction colorée).

Cette technique a été utilisée pour l'isolement de plusieurs bactéries pathogènes susceptibles d'être retrouvées dans différents aliments.

La difficulté de cette méthode consiste à identifier les fragments spécifiques d'ADN bactérien et de fabriquer leurs doubles.

Certaines de ces sondes sont déjà commercialisées (Gene Trak System ®) et permettent de déceler la contamination d'aliments par certaines bactéries comme *E coli* et *S aureus*. Il est donc envisageable de les utiliser pour la recherche de ces bactéries dans le lait. (Wolcott M J, 1991).

➤ Evaluation

Ce test est très sensible, ne nécessite pas beaucoup de temps (6 heures après l'arrivée du prélèvement au laboratoire). Il est automatisable, et sa spécificité excellente. Sa spécificité ne dépendant que de la qualité de la sonde fabriquée. L'inconvénient majeur de ce test est sans nul doute son manque de simplicité et surtout son coût (Sarradin, 1991 ; Veecht ,1995 et Wolcott, 1991).

III.2.2.4. Test au latex

Sur des billes de latex de 0. 008 à 0. 01 mm de diamètre, éventuellement colorées, sont fixés soit des antigènes soit des anticorps. La mise en présence de ces billes avec le lait contenant les anticorps ou les antigènes correspondant entraîne en quelques secondes une agglutination visible à l'œil nu. Ce principe a déjà fait l'objet d'applications commerciales. La détection d'antigènes n'est cependant possible que s'ils sont en concentration suffisante d'où la nécessité d'un enrichissement préalable (Hanzen et Castaigne, 2002).

III.2.3. Diagnostic bactériologique des mammites subcliniques

Le diagnostic bactériologique individuel a pour but d'identifier le ou les germes responsables de mammites et déterminer leur antibio-sensibilité ou antibio-résistance. (Hanzen et Castaigne, 2002).

L'examen bactériologique est lourd, coûteux et le résultat tardif. Il est surtout utilisé lors d'échec thérapeutique ou d'épizootie dans un élevage

De plus pour les problèmes liés à *Staphylococcus aureus*, la sensibilité d'une seule culture pour déterminer le statut infectieux d'un quartier est de 74. 5%. Avec deux prélèvements espacés de quelques jours elle passe à 94%, et à 98% avec trois prélèvements. Or en pratique, du fait du coût de cet examen et de sa technicité, il n'est réalisé la plupart du temps qu'une seule fois, généralement par le vétérinaire (Sears et al., 1990).

III.2.4. Méthodes non immunologiques : Test avec de l'hémolymphe de limule

Ce test est consacré à la mamelle pour le diagnostic des coliformes. Actuellement, il est commercialisé dans les pays scandinaves.

Sa sensibilité et sa spécificité sont estimées, par rapport aux examens bactériologiques classiques, respectivement à 63% et 97%.

Cette méthode se base sur la propriété des endotoxines bactériennes, qui est le lien et la dégranulation des *amœbocytes*, les seules cellules circulaires de *Limulus polyphemus* (le Limule ou le crabe fer à cheval = animal marin), et provoque la coagulation de son hémolymphe.

En utilisant un substrat chromogénique, on visualisera directement la présence d'endotoxine qui se manifeste par une couleur jaune, après 15 minutes (Waage et al., 1994).

➤ Principe

Cette méthode est fondée sur la coagulation des amœbocytes de l'hémolymphe de limule (*Limulus polyphemus*) au contact de composants bactériens. Cette coagulation nécessite l'activation d'une cascade enzymatique. Ces trois enzymes sont des enzymes intracellulaires des amœbocytes de sang de limule.

➤ Technique

Quand le lipopolysaccharide (LPS) bactérien entre au contact d'un lysat d'amœbocyte, ces enzymes sont activées et le lysat se gélifie. Pour accroître la lisibilité de la réaction, un substrat coloré peut être ajouté. La couleur obtenue avec une réaction positive est alors observable à l'œil nu.

0. 1 ml de lait est dilué dans de l'eau apyrogène. Cette dilution est placée pendant 2 minutes au bain-marie, dans de l'eau bouillante. 0. 1 ml de cette dilution est alors mis en présence d'un lysat de sang de limule et le substrat coloré. Si l'ensemble est coloré le test est considéré comme

positif: présence de LPS dans le lait, donc de la présence d'une mammite à gram négatif. Si l'ensemble reste incolore, le test est négatif.

➤ Evaluation

Waage a évalué ce test sur 781 laits de mammite. Il conclut que

- La valeur prédictive d'un test positif est proche de 70%.
- La valeur prédictive d'un test négatif est de plus de 95%.
- La sensibilité du test est de 63.3%. La spécificité du test est de 97%.

La même sensibilité (63%) a été obtenue par des vétérinaires : lors de chaque mammite qu'ils rencontrent, selon la technique, ils pressentent si la mammite est due à un gram négatif, ou à un gram positif. Leur sentiment est ensuite vérifié ou infirmé par une analyse bactérienne (White et al., 1986).

On peut donc dire que la sensibilité de ce test reste médiocre. Tout résultat positif doit être pris avec précaution. Par contre un résultat négatif paraît, selon cette étude, plus digne d'intérêt (Hanzen et Castaigne, 2002).

III.2.5. Modifications biochimiques de la composition du lait

III.2.5.1. Recherche d'enzymes

On recherche surtout les glycosidases et plus particulièrement la NAGase (N-acetate- β -D-glucosamidase). Ils sont normalement présents dans le lait ; leur concentration augmente dans le lait issu de quartiers infectés. Cette augmentation constitue un indicateur des lésions des cellules épithéliales (Kitchen, 1984).

Le dosage de cette enzyme est facilement exécuté au laboratoire et ne prend que 15 minutes. Sa concentration dans le lait concorde avec la concentration en cellules somatiques (CCS) et son taux est plus élevé dans les quartiers infectés par les germes majeurs, par rapport à ceux infectés par les germes mineurs (Mattlila et al., 1986).

III.2.5.2. Le test de la catalase

L'action de la catalase des leucocytes et des bactéries du lait sur le peroxyde d'hydrogène induit l'apparition d'oxygène. La formation de 20, 30 et 40% de gaz correspondant

respectivement à la présence de 500 000, $1 \cdot 10^6$ et 2 à 3. 10^6 cellules par ml de lait. Cette méthode requiert du temps (3 heures environ) et un matériel coûteux. Par ailleurs, après 24 heures de conservation, la formation de gaz s'accroît (Ch Hanzen et castaigne, 2002). Voir tableau n°8.

Tableau n°8 : évaluation du nombre de cellules en fonction de la quantité de gaz produite

% de gaz	cellules par ml de lait
20	500 000
30	1 million
40	2-3 millions

III.2.5.3. Recherche des protéines

Plusieurs protéines de la phase aigue sont sécrétées lors d'infection mammaire. C'est les cytokines pro-inflammatoires qui déclenchent leur sécrétion. (Raynes ; 1994).

Les protéines de la phase aigue les plus fréquentes chez la vache sont : le serum amyloide A (SAA) et l'haptoglobine (Hp). Elles sont les plus sensibles dans la mesure où leur concentration peut être multipliée par un facteur 100 dans le sérum d'animaux atteints par une infection (Raynes , 1994).

III.2.5.4. Le lactose

L'inflammation du quartier entraîne une diminution du taux de lactose dans le lait (Hanzen et Castaigne, 2002).

III.2.5.5. Les ions

Les techniques de mesure des taux de sodium, chlorures et potassium ne sont pas encore diffusées car les variations individuelles, liées aux numéro ou stade de lactation, œstrus, maladies intercurrentes, changement de l'alimentation, etc., sont telles que l'interprétation n'est possible que si l'on dispose des résultats des 4 quartiers d'une même vache, ou bien de l'évolution d'un quartier sur plusieurs jours. D'autre part, il existe une autre façon, d'apprécier ces modifications :

c'est la conductivité électrique du lait (CE).

Cette méthode, encore récente, permet le dépistage systématique des mammites subcliniques, quartier par quartier.

Dans le cas de mammites cliniques sévères, certains auteurs ont observé une augmentation de la conductivité au moins une traite avant l'apparition des symptômes cliniques (Hanzen et Castaigne, 2002).

Ce système permet plutôt de prévenir que de guérir, par le tri du lait à la ferme et d'optimiser sa qualité. Mais sa valeur prédictive positive est faible (Hamann et Zecconi, 1998 ; Ruegg, Reimann, 2002).

On a démontré que l'infection par *Staph. Aureus* induit une réponse variable entre les animaux, cependant toutes les vaches infectées ont, dans les 7 jours post-infection, présenté plus ou moins régulièrement des écarts en CE supérieures à 10%. Le dénombrement cellulaire (DC) est corrélé au CE pendant cette phase inflammatoire (Yves Le Roux , 1999)

L'inflammation du quartier entraîne 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.

La conductivité normale du lait de quartiers sains est fonction de la race et, pour une même race, fonction du troupeau. Dans un troupeau donné, elle est fonction de la vache (Hanzen et Castaigne, 2002).

III.2.6. Autres techniques de diagnostic

III.2.6.1. Techniques basées sur l'identification bactérienne

L'identification des espèces bactérienne en cas de mammite, est très importante pour le bien-être de l'animal et l'hygiène alimentaire.

De nouvelles méthodes d'identification bactérienne sont décrites, présentant des avantages : faciles à réaliser, rapides et moins coûteuses.

Ces dernières années, on a proposé les tests suivants :

➤ **Le HYMAST test**

Ce test permet d'identifier les *Staphylocoques*, les *Streptocoques* et les *Coliformes*. Il est commercialisé aux USA.

Sa sensibilité est insuffisante concernant le diagnostic des infections staphylococciques et à peine acceptable pour celui des infections streptococciques et à *E. coli*. (Jansen et al., 1997).

Cette sensibilité est de 26% à 58% après 36 heures d'incubation par contre elle est de 80 à 90% après une plus longue période d'incubation. Elle augmente donc en fonction de la durée d'incubation (Jansen et al., 1999).

➤ **Le test SENSI-VET MAM COLOR**

Commercialisé en France, il est destiné à l'identification de multiples pathogènes, notamment les streptocoques, staphylocoques, *E. coli*, entérobactéries, *Listeria*, mycoplasmes, *Pseudomonas*. Et pour évaluer la sensibilité des germes présents dans le lait vis-à-vis d'un certain nombre d'antibiotiques.

La lecture doit être faite uniquement après 24 à 48 heures d'incubation. On a rapporté une sensibilité de 97% et 90% respectivement pour les staphylocoques et *E. coli*.

Actuellement, aucune méthode spécifique d'identification bactérienne ne peut être réalisée dans l'élevage avec un résultat rapide et fiable. (Manner et al., 1999).

III.2.6.2. Technique basée sur la détection d'anticorps spécifiques dans le lait

➤ **Les tests PROSTAPH**

Ils sont commercialisés aux USA pour la détection des mammites à *S aureus*, avec des résultats très variables dont la sensibilité varie de 59 à 92% et la spécificité de 54 à 100%. (Fox et Adams, 1999)

III.2.6.3. Technique basée sur la biologie moléculaire

➤ La TTGE et la DGGE

La TTGE (Temporal Temperature Gel Electrophoresis) et la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) sont des techniques de biologie moléculaire, qui peuvent offrir une alternative intéressante. Ces deux tests complémentaires permettent d'identifier les espèces bactériennes dans le lait par analyse de l'ADN bactérien.

Après extraction totale de ce dernier du lait, sa région discriminante est amplifiée par PCR. Les fragments d'ADN sont ensuite séparés par électrophorèse et on obtient un profil permettant d'identifier les bactéries.

Ce référentiel de 170 espèces bactériennes constitue un outil original et très efficace pour identifier les germes présents dans le lait. La mise à la disposition de cette banque de données auprès des professionnels laitiers est actuellement à l'étude.

Des échantillons de lait ont été prélevés, en Normandie (entre novembre 2002 et février 2004) et ont subi un suivi de la microflore bactérienne au cours du stockage dans le tank de la ferme. Des laits individuels provenant de vaches atteintes de mammites cliniques ou de vaches produisant du lait caractérisé par un CCS variable (élevé ou faible), ont également été analysés. Cette méthode de diagnostic identifie de manière rapide et spécifique la microflore bactérienne des laits. En effet, elles sont utilisées pour détecter rapidement la présence de bactéries dans les laits de tanks de refroidissement. Par exemple, dès le début des prélèvements (en novembre 2002), la détection par TTGE, de *S uberis* a été réalisée sans qu'un signe clinique de mammite n'ait été observé dans les jours précédents.

D'autres part, l'analyse des laits individuels de vaches atteintes de mammite clinique a permis d'identifier des espèces bactériennes différentes: *S uberis*, *Pseudomonas alcaligenes*, *E coli*, *S sysgalactiae*.

La bactérie *S uberis* a également été détectée par TTGE dans des laits individuels de vaches présentant des CCS élevés, ainsi que dans deux laits caractérisés par des CCS faibles. Les techniques TTGE et DGGE sont donc efficaces pour identifier sous 2 à 3 jours et de façon spécifique la microflore bactérienne des laits crus, dans les laits individuels ou de troupeau.

La TTGE et DGGE devraient s'avérer utiles à la profession laitière en permettant une amélioration du diagnostic étiologique des mammites et une identification spécifique des bactéries impliquées. Moyennant une évaluation de leurs valeurs prédictives en conditions réelles

d'élevage, elles pourraient ainsi compléter la mesure du nombre de cellules somatiques pour évaluer l'état sanitaire des troupeaux laitiers. Ceci permettrait d'améliorer les traitements en les adaptant aux bactéries pathogènes identifiées. Un projet d'optimisation et d'automatisation est en cours, qui devrait permettre leur transfert vers les industries et les laboratoires professionnels (Jean-Claude Ogier, INRA, 2004).

Chapitre IV :
traitement et
prophylaxie des
mammites

IV.1. Traitement

L'apparition des sulfamides et des antibiotiques a bouleversé le pronostic des mammites. Soignée dès le début, la mammite doit évoluer sans complication. On peut dire que celles-ci sont presque toujours le fait d'une négligence. (Max, C., 1975).

La lactation est un phénomène physiologique qui exige des soins constants dès son installation (congestion mammaire), pendant sa durée (mammites) et pour sa disparition (tarissement) opération souvent délicate.

IV.1.1. Traitement médical

Les produits pharmaceutiques utilisés dans la lutte contre les mammites comprennent :

- **dérivés de l'acridine** : Entozon
- **Sulfamides** : Sulfathiazol.
Sulfadimérazine.
Sultirène.
- **Antibiotiques** : Pénicilline, Streptomycine, Chloramphénicol,
Auréomycine, Tétracycline, Soframycine, Kanamycine,
Néomycine Belcomycine, Colimycine.
- **Dérivés cortisoniques.**
- **Alphachymotrypsine** : (Kimolysine) Par voie générale ou par
voie intra- mammaire
- **Vaccins divers** : Fabriqués par les Instituts : (Mérieux, I.S.T,
I.B.T,)
- **Médicaments externes** : à base de pommades et liniments.

IV.1.2. Autres traitements

IV.1.2.1. Argilothérapie

L'argile a plusieurs propriétés thérapeutiques. En cataplasme, elle s'est avérée efficace contre l'inflammation associée à la mammite en raison de son très grand pouvoir absorbant. Pour préparer un cataplasme d'argile, on mélange de l'argile (blanche, verte ou grise) avec un liquide.

Certains producteurs utilisent de l'eau à la température de la pièce, d'autre de l'huile d'olive. Un bon compromis consiste à mélanger moitié eau, moitié huile, l'huile donnant une consistance plus élastique à la pâte. Le produit final doit être assez liquide tout en adhérant fermement en place sur le pis.

Ce traitement devrait produire des résultats en deux ou trois heures dans le cas d'une mammite aiguë, 4 à 6 heures pour des cas moins graves et en deux à trois jours pour les mammites chroniques. Si le traitement ne semble pas avoir d'effet après ce temps, il faut envisager d'autres mesures. (Jean, D., 1995)

IV.1.2.2. Phytothérapie

Cette méthode demande soin et attention pendant une semaine ou plus, et de ce point de vue, n'est pas vraiment applicable aujourd'hui dans un troupeau commercial. Elle a toute fois fait ses preuves en Angleterre où elle s'est avérée très efficace dans les cas de mammite clinique. Les herbes médicinales à utiliser sont l'ail et la germandrée à feuille de sauge. (Jean, D., 1995)

IV.1.2.3. Oxygénothérapie

Pour l'oxygénothérapie, c'est habituellement le peroxyde d'hydrogène qui est utilisé.

IV.1.3. Différentes voies de traitement

IV.1.3.1. Traitement par voie générale

Le transfert d'un antibiotique du sang vers le lait est optimal s'il est de poids moléculaire < 1000, liposoluble et basique. Administrés par voie générale, les sulfonamides, pénicillines, aminoglycosides et céphalosporines ne

pénètrent pas aisément dans la glande mammaire à la différence des macrolides telle l'érythromycine, du triméthoprim, des tétracyclines et des fluoroquinolones

IV.1.3.2. Traitement par voie galactophore

Les macrolides sont les plus indiqués car leur diffusion intracellulaire est excellente et leur persistance également. La spiromycine semble être la molécule de choix pour les germes sensibles car elle diffuse peu dans les quartiers voisins.

La plupart des β -lactamines diffusent largement et rapidement, mais leur concentration intracellulaire est toujours très faible (Fabre, J-M., Berthelox, X., Lebret, P., 1991)

Les aminosides persistent longtemps, mais leur diffusion est limitée. La pénétration intracellulaire est mauvaise. La gentamycine pénètre toutefois un peu mieux que la streptomycine. Les polypeptides possèdent les caractères amplifiée des aminosides : forte persistance, diffusion lente et limitée, très faible pénétration cellulaire. Les tétracycline ont une bonne diffusion mais les chélates inactivés, formés avec le calcium du lait, peuvent limiter leur activité et freiner notablement leurs possibilités de transfert membranaire. Seules des doses élevées permettent de limiter cet inconvénient.

La diffusion des antibiotiques (sulfamides, sulfones, nitrofuranes) dépend de leur solubilité et de leur taux de fixation. La pénétration intracellulaire est généralement faible ; elle est meilleure pour les sulfamides lipophiles (sulfaméthoxyridazine) et la dapsonne. D'une manière générale, il est possible d'atteindre le secteur intracellulaire avec des antibiotiques à très fortes doses (gentamycine, dapsonne, tétracyclines). Par contre, jusqu'à démonstration du contraire, cela semble le plus souvent exclu avec la streptomycine et DHS, les polypeptides, les β -lactamines (sauf les esters), les nitrofuranes, la navobiocine.

En revanche, l'atteinte d'un germe à localisation extracellulaire pose peu de problèmes quelque soit l'anti-infectieux utilisé.

IV.2. Prophylaxie

Dans la lutte contre les mammites, qui posent les plus gros problèmes dans les élevages biologiques, l'essentiel peut se résumer à :

IV.2.1. Procédure de traite

Il est important de veiller à la propreté dans les méthodes de traite pour éviter de propager les germes ou de les laisser se développer. L'hygiène a pour but de prévenir la transmission des microbes d'un trayon à l'autre sur la même vache ou d'une vache à l'autre. (Jean, D., 1995)

- **Lavage du pis :** Le lavage du pis a un but hygiénique et un effet stimulant sur la montée laitière. Un lavage adéquat est important surtout pour prévenir les mammites environnementales, celles causées par les coliformes et autres microbes des environnements contaminés. Un lavage de pis mal fait contribue à transmettre les microbes plutôt qu'à les détruire.

Le plus bas décompte de bactéries dans le lait est obtenu en effectuant le lavage du pis de la façon qui suit :

→ Mouiller et nettoyer avec une serviette de papier humide individuelle les trayons seulement. Le fait de mouiller le pis et les trayons résulte en plus de bactéries dans le lait que si seulement les trayons sont mouillés.

→ Essuyer avec des serviettes de papier individuelles. (Jean, D., 1995)

- **Pré-traite :** De tirer un peu de lait à la main avant la traite mécanique permet de stimuler la montée laitière et de prélever le lait avec un haut compte microbien. On utilise une tasse-filtre pour détecter le lait d'apparence anormale (grumeaux, ...). (Jean, D., 1995)
- **Ordre de traite :** Il est important de traire les vaches qu'on sait infectées en dernier. Si possible, on traite dans l'ordre : les vaches de première lactation, les vaches normales, les vaches avec un haut comptage cellulaire et les vaches infectées.

- **Autres mesures pendant la traite :** Il est important de traire au complet. Avec les trayeuses modernes, les risques de forcer l'entrée de microbes à la fin de la traite sont grandement diminués, en autant qu'elles soient bien ajustées. On peut réduire les chances de pénétration des bactéries dans le pis en diminuant l'amplitude des fluctuations du vacuum et la vitesse du changement de vacuum au trayon. Pour cela, on doit avoir une bonne réserve de vacuum et des conduits appropriés, s'assurer que la trayeuse ne glisse pas des trayons et en lever la trayeuse avec précaution. Bien que peu réaliste à l'échelle d'un troupeau, les risques d'infection peuvent être diminués si l'on finit la traite à la main. Il est important de traire deux fois par jour, même les vaches qui produisent peu. Plus le lait reste longtemps dans le pis, plus les risques d'infection sont grands. Il ne faut pas jeter le lait des premiers jets par terre afin de ne pas contaminer litière et plancher.
- **Bain de trayon d'après- traite :** Le bain de trayon désinfectant après chaque traite est une mesure qui permet de diminuer d'environ 50 % les risques d'infection par des microorganismes contagieux comme *Streptococcus agalactiae* et les *Staphylocoques dorés*. Grâce au bain de trayon, les populations de ces microbes ne peuvent pas se développer suffisamment entre chaque traite. Le bain de trayon permet également d'éloigner les mouches. Il est important que le bain de trayon contiennent jusqu'à 10 % de substances bénéfiques à la souplesse des tissus des trayons : huiles, glycérine, lanoline. Une peau souple et en santé est une assurance de plus contre l'entrée des bactéries dans le pis.
- **Nettoyage de l'équipement de traite :** Il est bien sur important de nettoyer et désinfecter l'équipement à chaque traite.
- Le vinaigre de cidre ou de maïs et le peroxyde sont utilisés par certains producteurs comme alternatives à l'acide phosphorique et au chlore .
(Jean, D., 1995)

IV.2.2. Contrôle de l'environnement

IV.2.2.1. Alimentation

Les producteurs ont souvent blâmé l'alimentation comme étant responsable d'épidémies de mammites cliniques. Cependant, les rations à haute teneur en énergie ou en protéine n'augmentent ni ne diminuent le nombre de nouvelles infections. L'alimentation des vaches hautement productives augmente le stress sur le pis et peut entraîner la manifestation de la maladie chez les animaux infectés. D'un autre côté, réduire la production de lait pour diminuer les cas de mammites cliniques n'est pas justifiable ni économique. Les problèmes de santé lors de la mise bas, particulièrement ceux qui causent le syndrome de la vache couchée, augmentent les risques de mammites. On peut réduire ces problèmes en séparant les vaches en lactation des vaches tarées et en donnant à ces dernières la ration équilibrée convenant à leur état (Rodenburg, J., 1997)

IV.2.2.2. Logement

Des études comparatives montrent une incidence légèrement réduite des mammites chez les vaches dans des logettes non entravées par rapport aux animaux attachés ou en stabulation libre. Quelque soit le système utilisé, la propreté générale de l'environnement constitue un des facteurs majeurs gouvernant le degré d'exposition à la mammite. Les parcs sales, l'eau stagnante, l'accumulation de fumier, le surpeuplement et l'épandage de lisier sur les pâturages augmentent le degré d'exposition et le risque de mammite.

Les aires d'exercice devraient être assez vastes et bien drainées pour permettre une pousse normale de l'herbe. Si non, ces aires doivent être bétonnées et régulièrement grattées nettes. (Rodenburg, J., 1997)

IV.2.2.3. Stalles et logettes

Lorsque les stalles sont trop petites, les blessures aux trayons sont plus fréquentes. Dans étables à stabulation libre, les vaches ont moins tendances à se coucher dans les allées sales, si les logettes sont assez grandes et s'il y en a au moins 9 pour 10 animaux. Les planchers de béton ou bois sont plus durs, moins confortables et risquent de provoquer de blessures aux trayons. Cependant, ce type de plancher nécessite moins d'entretien et de main d'œuvre que ceux en chaux ou en argile (Rodenburg, J., 1997)

IV.2.2.4. Litière

La litière est nécessaire pour garder la stalle sèche, éviter la multiplication de bactéries et assurer le confort des animaux. Il n'existe pas de matériau parfait pour la litière. Toutefois, il a été prouvé qu'une litière de sable dans une logette réduit au minimum les risques de contact du pis avec les bactéries (Rodenburg, J., 1997)

IV.2.2.5. Ventilation

De hautes températures (supérieures à 25°C), une humidité élevée (au-dessus de 80 %) et les odeurs de fumier sont reconnues comme des facteurs causant du stress pour la vache. L'humidité augmente aussi les risques d'exposition des trayons aux microorganismes présents dans l'air et dans la litière humide. Il en résulte un accroissement de la population des bactéries dans la litière. Une bonne ventilation constitue un facteur important pour tous les types de stabulation, autant pour assurer le confort de l'animal que pour limiter le contact avec les bactéries responsables de la mammité.

Conclusion

Les mammites sont des affections dominantes en élevage laitier Algérien , leur incidence est voisine de 50% (enquête DSV , 2002), elles occasionnent des pertes de quartier de l'ordre de 20,4% ,et la réforme des vaches pour cause de mammitede 11,7% . Ceci entraîne des pertes directes en production laitière , en vaches et génisses (**enquête DSV,2002**) .

Afin de trouver des solutions spécifiques à chaque bactérie, leurs identification dans les élvages est prémordiale . Des mesures de lutte adaptées peuvent être ainsi mises en place . Il est donc important de connaitre l'épidémiologie de la maladie pour la combattre efficacement .

Son éradication ,ou du moins une forte diminution de sa prévalence ,passe obligatoirement par des mesures de lutte raisonnées qui tiennent compte de certains facteurs, à savoir la conduite d'elvage.les règles d'hygiène,ainsi que les mesures de pévention contre cette affection.

Peu d'études ont été réalisées en Algérie (enquête de la DSV en 2002) sur l'épidémiologie des bactéries à l'origine des mammites .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ali-Vehmas 1997.** Binding of *Staphylococcus aureus* to milk fat globules increases resistance to penicillin-G. *J. Dairy R.*, 64, 253-260.
- Bareille N., et al 1998.** Survenue et expression des mammites cliniques et subcliniques en troupeaux bovins laitiers : facteurs de risque liés à la conception et à l'utilisation du bâtiment. *Rencontres Rech. Ruminants*, Paris, 3-4 décembre, 5, 297-301.
- Billon P., et al 1998.** Influence de la traite et de la machine à traire sur les numérations cellulaires et les infections mammaires chez la vache laitière. *Rencontres Rech. Ruminants*, Paris, 3-4 décembre, 5, 305-312.
- Bramley A.J., Neave F.K., 1975.** Studies on the control of coliform mastitis in dairy cows. *Br. Vet. J.*, 131, 160-169.
- Capuco A.V. et al., 1992.** Increased susceptibility to intramammary infection following removal of teat canal keratin. *J. Dairy Sci.*, 2126-2130.
- Carroll E.J., et al., 1982.** Chemotactic factors for bovine leukocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1661-1664.
- Daley M.J., Oldham E.R., Williams T.J., Coyle P.A., 1991.** Quantitative and qualitative properties of host polymorphonuclear cells during experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 52, 474-479.
- Djabri B., Bareille N., Beaudeau F., Seegers H., 2002.** Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows : a meta-analysis. *Vet. Res.*, 33, 335-357.
- Fabre, J-M., Berthelox, X., Lebert, P., (1991) –** Estimation de la fréquence des différents germes responsable d'infection mammaires dans le sud-ouest de la France.
- Fox L. K. et Adams D. S. 1999.** Use the enzyme linked immunosorbent assay to detect antibody against *Staphylococcus aureus* in milk: Where are today? Proceeding of the 38th Annual Meeting of the National Mastitis Council, 58-67.
- Frost A.J., 1975.** Selective adhesion of microorganisms to the ductular epithelium of the bovine mammary gland. *Infect. Immun.*, 12, 1154-1156.
- Grove T. M, Jones G. M. 1992.** Use of an enzyme-linked immunosorbent assay to monitor the control of *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J. of Dairy Science*. 75,423-434.
- Hamann H, Zecconi A. 1998.** Evaluation of electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. Fédération internationale laitière. Bulletin n° 34,27pp.

Hanzen CH., Castaigne J. Loup. 2002. Faculté de Médecine Vétérinaire. Université de Liège, chapitre 30 : pathologie infectieuse de la glande mammaire, dernière mise à jour : 02/02/2002 site web : www.fmv.ulg.ac.Be/oga/index.

Hellmann K., Barthel H., Traeder W., 1993. Subklinische mastitis : voraussetzung für sanierung und therapie. *Tierärztl. Umschau* 48, 356-364.

Henry I.,2001. Fréquence et étiologie des infections intramammaires des vaches laitières autour du vêlage. *Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire*, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.

Jansen J.T. et Kelton K.F. 1997. Utilising and evaluating the Hymatest on dairy farms. Proceedings of the 36th National Mastitis Council Regional Meeting, 1-8.

Jean- Blain, C., (2002) – Introduction à la nutrition des animaux domestique..

Jean, D., (1995) – Soigner la mammite sans antibiotiques. Ed : Ecological Agriculture projects.

Jean- Yues, P., (2004) – Gestion de la santé du pis :le point de vue d'un médecin vétérinaire praticien . Ed : CRAAQ

Jorstad A., Farver T.B., Riemann H., 1989. Teat canal diameter and other cow factors with possible influence on somatic cell counts in cow milk. *Acta Vet. Scand.*, 30, 3.

Kitchen 1984. Relationship between level of N-acetyl- β -glucosaminidase (NAGase) in bovine milk and the presence of mastitis. *J. Dairy Res*, 51:11-16.

Lee A., Wooding F.B.P., Kemp P., 1980. Identification properties and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretion colostrums and milk from normal cows. *J. Dairy Sci.*, 47, 39-50.

Longo F., Beguin J.C., Consalvi P.J., Deltor J.C., 1994. Quelques données épidémiologiques sur les mammites subcliniques de la vache laitière. *Revue Méd. vét.*, 145, 1, 43-47.

Manner et al 1999. L'analyse bactériologique des laits de mammites cliniques : Sensi –Vet Mam Color apporte une reponse rapide et fiable. Journées Nationales : GTV-INRA, Nantes, 181.

Mattila et al 1986. Comparison of milk antitrypsin, albumin, N-acetyl-b-D-glucosaminidase, somatic cells and bacteriological analysis as indicators of bovine subclinical mastitis. *Veterinary Research Communication*, 10, 113-124.

Mattila-Sandholm T., Alivehmas T., Kaartinen L., Honkanen B.T., 1990. Growth characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia Coli* in whey from sequentially infected milk. *Acta vet. Scand.*, 31, 169-174.

Max, C., (1975) – Guide thérapeutique vétérinaire.

2ieme édition revue et augmentée. Ed : Librairie Maloine S.A, Paris.

Michelutti I., Le Roux Y., Laurent F., 1999. Influence des cellules sur la composition biochimique du lait et son aptitude à la transformation. *Journées Nationales GTV-INRA*, Nantes-mai 1999, 115-122.

Miller R.H., Guidry A.J., Paape M.J., Dulin A.M., Fulton L.A., 1988. Relationship between immunoglobulin concentrations in milk and phagocytosis by bovine neutrophils. *Am. J. Vet. Res.*, 49, 42-45.

Nagahata H., 1988. Assessment of neutrophil function in the dairy cow during the perinatal period. *J. Vet. Med.*, 35, 747-751.

Naidu T.C., Newbould F.H.S., 1973. Glycogen in leukocytes from bovine blood in milk. *Can. J. Comp. Med.*, 37, 47-55.

Nielen et al. 1992. Influence du stade de lactation sur le nombre de cellules /ml (les premiers jets des quartiers non infectés) journal of dairy science, 75,606-614.

Oliver J., Dodd F.H., Neave F.K., Bailey G.L., 1956. Variations in the incidence of udder infection and mastitis with stage in lactation, age and season of the year. *J. Dairy Res.*, 23, 181-193.

Owens W.E., Watts J.L., Boddie R.L., Nickerson S.C., 1988. Antibiotic treatment of mastitis: comparaison of intramammary and intramammary plus intramuscular therapies. *J. Dairy Sci.*, 71, 3143-3147.

Owens W.E., Watts J.L., 1988. Antimicrobial susceptibility and β -lactamase testing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine udders. *J. Dairy Sci.*, 71, 1434-1446.

Owens W.E., Nickerson S.C., Watts J.L., Rzepkowski R.A., Yancey R.J., 1994. Milk, serum, and mammary tissue concentration of pirlimycin following intramuscular, intramammary, or combination therapy of chronic *Staphylococcus aureus* mastitis. *Agri-Practice*, 15-3, 19-23.

Owens W.E., Ray C.H., Watts J.L., Yancey R.J., 1997. Comparaison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. *J. Dairy Sci.*, 80, 313-317.

Owens W.E., Ray C.H., Boddie R.L., Nickerson S.C., 1997. Efficacy of sequential intramammary antibiotic treatment against chronic *Staphylococcus aureus* intramammary infection. *Large Anim. Pract.*, 18-5, 10-14.

Owens W.E., Nickerson S.C., Ray C.H., 1999. Efficacy of parenterally or intramammarily administered tilmicosin or ceftiofur against *Staphylococcus aureus* mastitis during lactation. *J. Dairy Sci.*, 82, 645-647.

Paape M.J., Guidry A.J., 1977. Effect of fat and casein on intracellular killing of *Staphylococcus aureus* by milk leukocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 155, 588-593.

Paape M.J., Wergin W.P., Guidry A.J., Pearson R.E., 1979. Leukocytes. Second line of defense against invading mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.*, 62, 135-153.

Persson K., Larsson I., Hallen S.C., 1993. Effects of certain inflammatory mediators on bovine neutrophil migration in vivo and in vitro. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 37, 99-112.

Postle D.S., Roguinsky M., Poutrel B., 1978. Induced Staphylococcal infections in the bovine mammary gland. *Am. J. Vet. Res.*, 39, 1, 29-35.

Poutrel B., Lerondelle C., 1978. Induced staphylococcal infections in the bovine mammary gland. Influence of the month of lactation and other factors related to the cow. *Ann. Rech. Vet.*, 9, 119-128.

Poutrel B., Lerondelle C., 1980. Protective effect in the lactating bovine mammary gland induced by coagulase-negative staphylococci against experimental *Staphylococcus aureus* infections. *Ann. Rech. Vet.*, 11, 327-332.

Poutrel B., Rainard P., 1982. Predicting the probability of quarter infection (by major pathogens) from somatic cell concentration. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1296-1299.

Poutrel B., 1985. Généralités sur les mammites de la vache laitière : processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. *Rec. Med. Vet.*, 161, 497-511.

Rainard P., Poutrel B., 1982. Dynamics of nonclinical bovine intramammary infections with major and minor pathogens. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 2143-2146.

Rainard P., Poutrel B., 1984. Non-random distribution of udder infections among cows. Evaluation of some contributing factors. *Ann. Rech. Vet.*, 15, 119-127.

Rainard P., 1986. Bacteriostatic activity of bovine milk lactoferrin against mastitic bacteria. *Vet. Microbiol.*, 11, 387-392.

Rainard P., Ducelliez M., Poutrel B., 1990. The contribution of mammary infections by coagulase-negative staphylococci to the herd bulk milk somatic cell count. *Vet. Res. Commun.*, 14, 193-198.

Rainard P., 1991. Mécanismes immunitaires de défense de la mamelle et leur régulation. *Mammites des vaches laitières*, Société Française de Buiatrie-SNGTV-INRA-Nouvel Institut de l'Élevage, Paris 18-19 décembre, 163-168.

Raubertas R.F., Shook G.E., 1982. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J. Dairy Sci.*, 65, 419-425.

Reiter B., Pickering A., Oram J.D., Pope G.S., 1963. Peroxidase thiocyanate inhibition of streptococci in raw milk. *Proc. Soc. Gen. Microbiol. J. Gen. Microbiol.*, 33, XII

Reiter B., Brock J.H., 1975. Inhibition of *Escherichia coli* by bovine colostrum and post-colostral milk. I. Complement-mediated bactericidal activity of antibodies to a serum susceptible strain of *E. coli* of the serotype O111. *Immunology*, 28, 71-82.

Riollet C., Rainard P., Poutrel B., 2000. Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 7, 2, 161-167.

Rodenburg, J., (1997) – Prévention de la mammite : contrôle de l'environnement

Sandholm M., Kaartinen L., Hyvönen P., Veijalainen K., Kuosa P.L., 1989. Flotation of mastitis pathogens with cream from subclinically infected quarters. Prospects for developing a cream-rising test for detecting mastitis caused by major mastitis pathogens. *J. vet. Med. B*, 36, 27-34.

Sandholm M., Kaartinen L., Pyörälä S., 1990. Bovine mastitis-why does antibiotic therapy not always work? An overview. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, 13, 248-260.

Sarradin P., 1991. Les méthodes non bactériologiques de diagnostic spécifique des mammites bovines: actualités et perspectives. *Mammites des vaches laitières*, Société Française de Buiatrie-SNGTV-INRA-Nouvel Institut de l'Élevage, Paris 18-19 décembre, 81-87.

Scott Adams .1988grove19 92 sarradin 1991 veecht1995 . Staphylococcus aureus antigens reactive with milk immunoglobulin G of naturally infected dairy cows. *Journal of Clinical Microbiology*, 1988; 1175-1180.

Sears P.M., Smith B.S., Herer P.B., Gonzalez P.S., 1990. Shedding pattern of Staphylococcus aureus from bovine intramammary infections. *J. Dairy Sci.*, 73, 2785-2789.

Sears P.M., Gonzalez R.N., Wilson D.J., Han H.R., 1993. Procedures for mastitis diagnosis and control. *Vet. Clin. North. Am., Food Anim. Pract.*, 9, 445-468.

Seegers H., Beaudeau F., Bareille N., Fourichon C., 2000. Evaluation de la perte de production associée à la concentration en cellules somatiques du lait de tank en troupeaux bovins laitiers. *Rencontres Rech. Ruminants*, 7, 110.

Seegers H., Billon D., Fourichon C., Hortet P.,2002. Evaluation de la pertinence économique du traitement de mammites subcliniques en cours de lactation chez la vache laitière. *Rencontres Rech. Ruminants*, 9, 29-32.

Serieys F., 1985a. Interprétation des concentrations cellulaires du lait individuel de vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire. *Ann. Rech. Vét.*, 16, 263-269.

Serieys F., 1985b. Relation entre concentration cellulaire du lait individuel, production laitière, et sensibilité des vaches aux infections mammaires. *Ann. Rech. Vét.*, 16, 271-277.

Serieys F., 1989. Les mammites des vaches laitières. *ITEB*

Sordillo L.M., 1991. Rôle des cytokines dans la physiopathologie et la thérapeutique des mammites bovines. *Mammites des vaches laitières*, Société Française de Buiatrie-SNGTV-INRA-Nouvel Institut de l'Élevage, Paris 18-19 décembre, 163-168.

Veecht 1995 et grove. 1992. Identification of mastitis pathogens. The third international mastitis seminar, Tel-Aviv, Israël, 28 may–1 june 1995; book2, s-2, 3-17.

.

Waage et al. 1994. Evaluation of cow-side test for detection of gram negative bacteria in milk from cows with mastitis. *ActaveterinaryScandinavia*. 35: 207-212.

Wolcott M.J. 1991. DNA-based rapid methods for the detection of foodbom pathogens. *Journal of food protections*, 54, 5, 387-401.

Yves Le Roux.1999. Les mammites chez la vache laitière. Inflammation de la glande mammaire : première pathologie en élevage laitier

RESUME

RESUME

La mammite est une maladie qui affecte un nombre important de vaches laitières ,et qui représente un grand problème pour l'éleveur comme pour l'économie nationale surtout en ce qui concerne les pertes économiques et les frais vétérinaires ce qui nécessite une rigueur de la part des éleveurs et surtout des praticiens vétérinaires.