



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour –Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم الفلاحية و البيطرية

Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : sciences alimentaire.

Option : Qualité des produits et sécurité alimentaire.

Thème

**Contribution à l'étude bactériologique
des mammites cliniques chez les bovins.**

Présenté par : - BENHAOUA NERMINE RACHA.

- MHAMEDI FATNA.

Promoteur : BAALIM

DEVANT LE JURY :

Président : DR LAOUN ABBAS.

Examineur : Mme BOUHAROUD REBIHA.

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements

(الحمد لله الذي هيا البدا يسر الطريق وطيب المنتهى)

Avant tout, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné cette opportunité d'étudier, et de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour accompagner ce travail.

*Nous remercions naturellement nos encadreurs Monsieur **BAALI MOHAMED**, pour sa disponibilité, son aide, son temps et ses précieux conseils durant l'élaboration de ce projet.*

Enfin, profonds gratitude a tous ceux qui ont contribue de père ou de loin a la realisation de ce document.

*Mlles **Benhaoua Nermin Racha et Mhamedi Fatna.***

Dédicace:

*A mes parents source d'amour, je prie dieu le tout puissant pour qu'il leur accorde une
bonne santé et longue vie, Merci pour tout*

A mon père brahim ,A ma mère ouassila,

***Mama Tu m'as donné la vie, l'amour et le courage. , Je t'offre cet humble travail pour toute
la passion et l'amour que tu m'as donné, Je t'aime, ma mère, la reine de mon cœur "***

***La personne qui mérite mon appréciation et mon respect, c'est toi, mon père Tu m'as appris
à être fort et en même temps à avoir un cœur doux et à aimer les gens... Que Dieu te
protège et te donne la santé et une longue vie.***

A mes chères sœurs fedoua, riham, Loudjain ,Assia.

Et ma famille adorée

Benhaoua et Said zouaoui.

Je vous remercie de me faire confiance Benhaoua B.A

A mes chers amis malika ,zhaira ,manar ,oumaïma et maroua .

Nermine racha

Dédicace:

Ce travail est dédié

au premier soutien, ma mère et mon père. Il n'y a pas de mots ni de dévouement qui puissent exprimer ma gratitude pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon bien-être.

A mes sœurs et mon frère

Tous mes grands-pères maternels et paternels.

Ma tante Zainab, ma tante Fadila

Mon oncle Labaz mohamed

À mes chers amis : zahra, chaimaa

Pour leurs encouragements tout au long de mon parcours académique.

FATNA

SOMMAIRE:

LISTE DES FIGURES.

LISTE DES TABLEAUX.

LISTES DES SIGLES ET ABREVIATIONS.

INTRODUCTION.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1: rappels anatomo-physiologique de la glande mammaire

1 Rappelles sur l’anatomie de la mamelle	6
1.1. Conformation externe.....	6
1.2. Conformation interne.....	6
1.3. Les vaisseaux et les nerfs	8
2. La physiologie de la mamelle.....	8
2.1. Mécanisme de la sécrétion de lait (lactation).....	8
2.2. Les mécanismes de défense de la mamelle.....	9
2.2.1. La défense locale.....	9
❖ Les moyens physiques	9
❖ Les moyens mécaniques.....	10
❖ Moyens immunitaires	10
❖ Les moyens bactéricides.....	10
2.2.2. La défense générale.....	11
❖ Les moyens non cellulaires.....	12
❖ Lalactoferrine	12
❖ Lelysozyme,	12

CHAPITRE 02: LES MAMMITES DE LA VACHE LAITIERE

1. Définition.....	14
2. Etiologie.....	14
3. Différent type des mammites :	17
3.1. Mammite clinique :.....	17
3.1.1. Mammites suraiguës.....	17
3.1.1.1. Mammites paraplégique « colibacillaires ».....	17
3.1.1.2. Mammites « gangreneuses ».....	18
3.1.2. Mammites aiguës.....	18
3.1.3. Mammite subaiguë et aigue :.....	18
2.1.3 Mammite chronique :.....	18
3.2. Mammites sub-cliniques.....	18
4. Pathogénie	19
4.1. La phase d'invasion (Pénétration des microorganismes) :.....	19
4.1.1. Par la multiplication des germes présents sur le trayon :.....	20
4.1.2. Par l'introduction de germes par l'être humain :.....	20
4.2. La phase d'infection :	20
4.3. Evolution :.....	20
5. Importance des mammites :.....	21
5.1. Importance médicale :.....	21
5.2. Importance sanitaire :	21
5.3. Importance économique :.....	21

CHAPITRE 03: DIAGNOSTIQUE DES MAMMIFÈRES

1. Méthode des diagnostics.....	23
1.1-Diagnostic clinique.....	23
1.1.1. Signes généraux.....	24
1.1.2. Signes locaux.....	24
1.2. Diagnostic expérimentales.....	24
1.2.1-Diagnostic direct.....	25.
1.2.1.1-Analyse bactériologique	25
1.2.1.2-Analyse mycologique.....	25
1.2.2. Diagnostic indirect.....	25
1.2.2.1. Le California Mastitis Test (C.M.T) :.....	25
1.2.2.2. Les Concentrations cellulaires somatiques du lait (CCS) :.....	25
1.2.2.3. La conductivité électrique du lait :	26

CHAPITRE 04 : TRAITEMENT ET PROPHYLAXIES

I. Traitement.....	28
1-Mesures thérapeutiques	28
❖ Moment du traitement :.....	28
2. Médicaments utilisés et Voies d'administration.....	28
2.1-Médicaments utilisés	28
2.1.1. Fluidothérapie.....	28
2.1.2. Anti-inflammatoires.....	29
❖ Anti-inflammatoires Stéroïdiens(AIS).....	29
❖ Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS).....	29
2.1.3. L'antibiotique.....	29

2.2-Voies d'administration.....	31
2.2.1. Par voie générale.....	31
2.2.2. Par voie galactophore	32
3. Prophylaxie	32

PARTI EXPERIMENTAL

CHAPITRE 05 : MATERIELS ET METHODES

Objectif.....	35
Zone d'étude:.....	36
1- Matériel	36
1.1- Les animaux :.....	36
1.2. Fiche d'enquête :.....	36
1.3- Matériels de prélèvements :.....	37
1.4- Matériel de laboratoire :.....	37
2- Méthodes :.....	37
2.1- Méthodes de détections des mammites cliniques.....	37
2-2 prélèvements :	28
2-2-1- le moment de prélèvement:.....	38
2-2-2- la technique de prélèvement:.....	38
2-2-3- Conservation des prélèvements.....	38
2-3-Méthodes de laboratoire:.....	40
2-3-1- Préparation des milieux de culture :.....	40
2-3-2- Analyse bactériologique :.....	40
2-3-2-a- Enrichissement :.....	40
2-3-2-b-Isolement.....	40

2-3-2-c- Purification et conservation des souches isolées :.....	41
2-3-2-d- Aspect des colonies :	41
2-3-2-e- Identification :.....	42
A) Identification microscopique :.....	42
B) Identification biochimique :	43
B-1) Identification des entérobactéries :.....	43
a-1-) Recherche de l'oxydase (voir annexe 3).....	43
b-2-) Fermentation de glucose avec ou sans gaz, utilisation du lactose et du saccharose et production d'H ₂ S : Test TSI	43
c-3) Mise en évidence de la production d'indole, présence de l'uréase :.....	44
d-4) Test de l'utilisation du citrate Simmons (CIT) :.....	44
e-5) Test lysine décarboxylase (LDC), ODC (ornithine décarboxylase) et ADH. (Arginine di hydrolase)	44
B-2) Identification des Staphylocoques :	44
3-4- Analyse statistique :.....	44

CHAPITRE 06: RESULTATS

1-Résultats de l'enquête.....	48
2-Aspect global sur la population d'étude :.....	48
2.1. Variation de l'incidence des mammites cliniques en fonction du rang de lactation (l'effet de l'Age)	49
2.2-Effet du mois (moments) de lactation sur les mammites cliniques :.....	50
3. Analyse bactériologique :.....	51
3.1 Résultat globaux et qualité d'échantillonnage:.....	51
3.2. Nature et prévalence des germes:.....	53
3.3. Présence simultanée de 2 espèces bactériennes dans un même prélèvement du lait :..	54

1-choix de sujet et méthodologie de travail:	56
2. Informations générales sur le cheptel expérimenté :	56
2.1. Enregistrement des cas clinique :.....	56
2.2. Répartition des mammites cliniques en fonction du stade de lactation :.....	57
2.3. Répartition des mammites cliniques en fonction du rang de lactation :.....	58
3-Analyse bactériologique	59
3.1.-Qualité d'échantillonnages	59
3.1.1.-Prélèvements corrects (mono et bi-microbien) :.....	59
3.1.2. Prélèvements stérile (culture négative) :.....	59
3.1.3. Prélèvements contaminés (plus de deux espèces bactériennes) :	61
3.2. Importance des différentes espèces bactériennes :	61
3.2.1. <i>Staphylococcus</i> mannitol positifs (<i>Staphylococcus aureus</i>) :.....	62
3.2.2. <i>Escherichia coli</i> :.....	63
3.2.3. Les <i>Staphylocoques</i> mannitol (coagulase négatifs) :.....	63
3.2.4. Autres bactéries :.....	65
Conclusion :	67
Recommandations	67

LISTE DES FIGURES:

Figure 01 : conformation extérieure de la mamelle de la vache (Barone, 1990).....	6
Figure 02: Conformation intérieure des mamelles de la vache (Barone, 1978).....	7
Figure 03 : Anatomie du trayon chez la vache (Couture et Mulon., 2005).....	7
Figure 04 : Lésions du trayon de type vasculaire (DUREL et al., 2011 et photos du Teat Club International).....	23
Figure 05 : Technique du prélèvement du lait pour examen bactériologique (FRIHI et HADJADJ ., 2018).....	39
Figure 06: Echantillons prélevés sur les quatre vaches.....	39
Figure 07: Prélèvements positifs sur milieu Mannitol salt agar (originale).....	41
Figure08 : Prélèvement positif sur milieu de Hektoen (originale).....	42
Figure09 : L’aspect des staphylocoques après de la coloration de Gram.....	43
Figure 10 : L’aspect des entérobactéries à la coloration de Gram.....	43
Schéma 11 : Représentation schématique de la méthode d’isolement et d’identification bactérienne	46
Figure 12 : Répartition des prélèvements du lait mammitique en fonction du Mois du prélèvement.....	48
Figure13: répartitions des mammites cliniques des vaches en fonction de l’âge.....	50
Figure 14 : Répartition des mammites clinique des en fonction de mois de lactation....	51
Figure 15 : Répartition des souches isolées par quartiers.	52
Figure16: Répartition des germes isolés en fonction du Gram.....	53
Figure17: fréquence d’isolement des différentes espèces bactériennes.....	54

LISTE DES TABLEAUX:

Tableau01: Les Germes responsables de mammites et leur réservoir primaire (QUINN et al, 1994).....	15
Tableau 2 : Comparaison des propriétés des antibiotiques (FAROULT et SERIEYS HORS SERIE GTV, 2005).....	30
Tableau 03: évaluation de la qualité du prélèvement (COFRAC/CVEVA, 1996).	41
Tableau 04 : Caractéristiques des troupeaux visitées.....	49
Tableau 05 : Répartition des cas de mammites cliniques selon le rang de lactation.....	50
Tableau 06 : Répartition des mammites clinique en fonction de mois de lactation.....	51
Tableau 07 : Nombre et fréquence des germes isolés par quartiers positif :.....	52
Tableau 08: Répartition des germes isolés en fonction du Gram.....	53
Tableau 09 : fréquence d'isolement des différentes espèces bactériennes.	54
Tableau 10 : les associations de 2 espèces bactériennes.....	55

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATION :

C° : Degré Celsius.

E. coli: *Escherichia coli*.

Fig: figure.

TSI: Triple SugarIronagar.

Gram +: gramme positive.

Gram-: gramme négative.

s.aureus : *staphylococcus aureus*.

Lactase + : lactase positive.

P: prélèvement.

N: nombre.

F: fréquence.

Mono micro: mono- microbien.

Bi micro : bi -microbien.

P v : *Proteus vulgaris*.

% : pourcentage.

AINS : anti-inflamatiore non stéroïdiens.

AIS: anti-inflamatiore. Stéroïdiens.

ADH : arginine dihydrolase.

Catal+ : catalase positive.

Catal-: catalase négative.

coag+: coagulase positive.

Coag-: coagulase negative.

CIT: citrate de Simmons test.

CMT: californien mastites test.

Cox: cyclo-oxygénases.

Co2: dioxyde de carbone.

E: élevage.

GNI: gélose nutritive inclinée.

H: heure.

H2S: sulfure d'hydrogène.

I: intermédiaire.

Ig A: immunoglobuline de classe A.

Ig G1 : immunoglobuline G de sous- classe 1.

Ig G2: immunoglobuline G de sous- classe 2.

Ig M: immunoglobuline de classe M.

Kg : kilogramme.

LDC : test lysine decarboxylase.

ML: millimètre.

ODC : ornithine décarboxylase.

Oxyd+: oxydase positive.

Oxyd-: oxydase négative.

PH: potentiel hydrogène.

PMN: polynucléaires neutrophiles.

GNI: gélose nutritive inclinée.

IMI: infection intra mammaire.

BHIB: Bouillon cœur cerveau.

LISTE DES ANNEX :

Annex01:Matériel de prélèvement et d'analyse.

Annex02: Préparation des Milieux de culture utilisés.

Annex03:Techniques microbiologiques.

Annex04:Fiche d'enquête.

INTRODUCTION

Introduction:

Une mammite est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle, provoquée majoritairement par une infection bactérienne. Elle peut également être provoquée par une infection virale ou fongique, ou même à la suite de changements physiologiques provoqués par le stress ou une blessure (**Charron, 1986**). Elle se rencontre généralement chez les vaches en lactation (**GAMBO et al., 2001**). Cette infection représente la pathologie la plus fréquente en élevage bovin laitier (**FAYE, 1994**). Elle a bien évidemment un impact financier pour l'éleveur (lait non produit ou non commercialisé, réforme des vaches incurables, et coût des soins). Mais aussi un impact sur la santé publique par l'utilisation quasi systématique d'antibiotiques.

On distingue les mammites cliniques, avec une modification visible de la composition du lait et une inflammation de la mamelle, des mammites sub-cliniques détectables seulement par la mise en évidence d'une élévation du taux cellulaire du lait.

En Algérie, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers, (**NIAR et al., 2000**). Cependant, malgré la fréquence élevée des mammites cliniques, il faut signaler l'insuffisance d'études approfondies, indispensables pour cerner les facteurs de risque associés à ces infections mammaires ainsi que la connaissance des bactéries responsables.

En toute rigueur, l'identification et le contrôle de la sensibilité de la bactérie devraient être effectués avant tout traitement. En fait, dans la plupart des cas l'impossibilité d'attendre le résultat de l'examen bactériologique avant de mettre en œuvre le traitement, fait qu'un choix de première intention est effectué sur la base de l'expérience et des données épidémiologiques les plus récentes.

La recherche et l'identification des germes incriminés dans les mammites cliniques sont donc d'un intérêt déterminant pour la définition et l'adaptation des programmes de maîtrise de la pathologie mammaire et pour une meilleure connaissance de l'épidémiologie de ces infections.

En effet, L'insuffisance des données publiées sur les infections mammaires en Algérie, et particulièrement dans la wilaya de Djelfa, nous a incité à mener une étude globale afin de contribuer à une meilleure connaissance des mammites cliniques de la vache laitière.

Dans ce contexte la présente étude a pour objectif de :

❖ Evaluer la prévalence approximative des mammites cliniques dans certains élevages des bovins laitiers situés au niveau de certain communes de la wilaya de Djelfa

- ❖ Déterminer la nature et la fréquence des germes responsables des mammites cliniques.

- ❖ Mettre en évidence les différents facteurs susceptibles d'augmenter le risque des Infections intra-mammaires.

- ❖ Etudier l'antibiorésistance in vitro de certains germes isolés du lait mammitiqueux.

Pour cela, la présente étude est scindée en deux parties :

↳ Une revue bibliographique qui nous permis de se pencher sur les caractéristiques des mamelles (l'anatomie et la défense de mamelle), les infections mammaires (agent étiologique et l'épidémiologie), les différentes méthodes de diagnostic, ainsi qu'un certain nombre de mesures de lutte contre ces agents infectieux.

↳ La deuxième partie, présentera notre étude expérimentale qui comprend les objectifs des travaux entrepris et la présentation des résultats des études réalisées sur :

- ❖ Les aspects épidémiologiques des mammites cliniques chez la vache laitière.

- ❖ Les différentes techniques bactériologiques permettant de préciser l'identification de l'étiologie des mammites cliniques

- ❖ l'évaluation in vitro la sensibilité des germes isolés.

En fin, les résultats seront discutés dans une dernière partie.

ÉTUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :

RAPPELS ANATOMIQUES
ET PHYSIOLOGIQUES
DE la MAMELLE

1 Rappelles sur l'anatomie de la mamelle :

1.1. Conformation externe

La mamelle de la vache est composée de quatre quartiers anatomiquement indépendants séparés par des ligaments. Chaque quartier est terminé à son extrémité par un trayon. La mamelle est suspendue à l'abdomen par le ligament suspenseur du pis, tissu fibroélastique, inséré sur la ligne blanche. Très résistant et épais, il garantit le maintien de la glande, qui atteint 50 kg en moyenne chez la vache mais pouvant atteindre 100 kg chez les très hautes productrices. Les quartiers avant et arrière quant à eux sont séparés par un septum plus mince (Delaval, 2010).

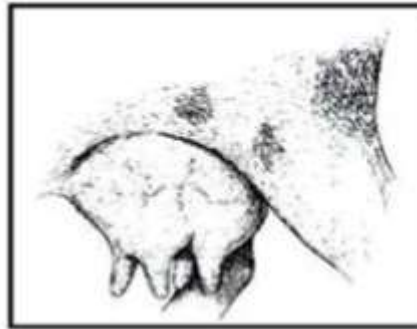


Figure 01 : conformation extérieure de la mamelle de la vache (Barone, 1990).

1.2. Conformation interne

Elle contient les alvéoles glandulaires ou acini mammaires, qui formée de lactocytes, synthétisent le lait. Les alvéoles sont entourées par un tissu parenchymateux, et sont reliées à la citerne de la glande, d'un volume moyen de 400 ml, via les tubules et les canaux galactophores (figure 02).

La mamelle de la vache est un très gros organe pesant environ 50 kg. Étant donné que des poids de 100 kg peuvent être atteints, il est toutefois capital que la mamelle soit très bien attachée au squelette et aux muscles. Il existe deux types de ligaments pour assurer cette fonction: les ligaments médians et les ligaments latéraux. Si les ligaments s'affaiblissent, la mamelle ne sera plus apte à la traite mécanique puisque les trayons pointeront vers l'extérieur (Jean, 2010).

Chaque quartier se termine par un trayon qui se compose d'une citerne du trayon en communication avec la citerne de la glande via le pli annulaire, et du canal du trayon, à son extrémité. On remarque à la jonction entre la citerne du trayon et le canal la présence de plis muqueux qui forment la rosette de Fürstenberg. On retrouve ces replis, mais de façon moins

développée au niveau de la paroi du canal. L'extrémité distale du canal du trayon est caractérisée par la présence d'un muscle circulaire lisse formant un sphincter. Lorsque celui-ci se resserre les replis du canal du trayon s'imbriquent les uns dans les autres pour en obstruer l'ouverture (Jean, 2010). (Figure 03)

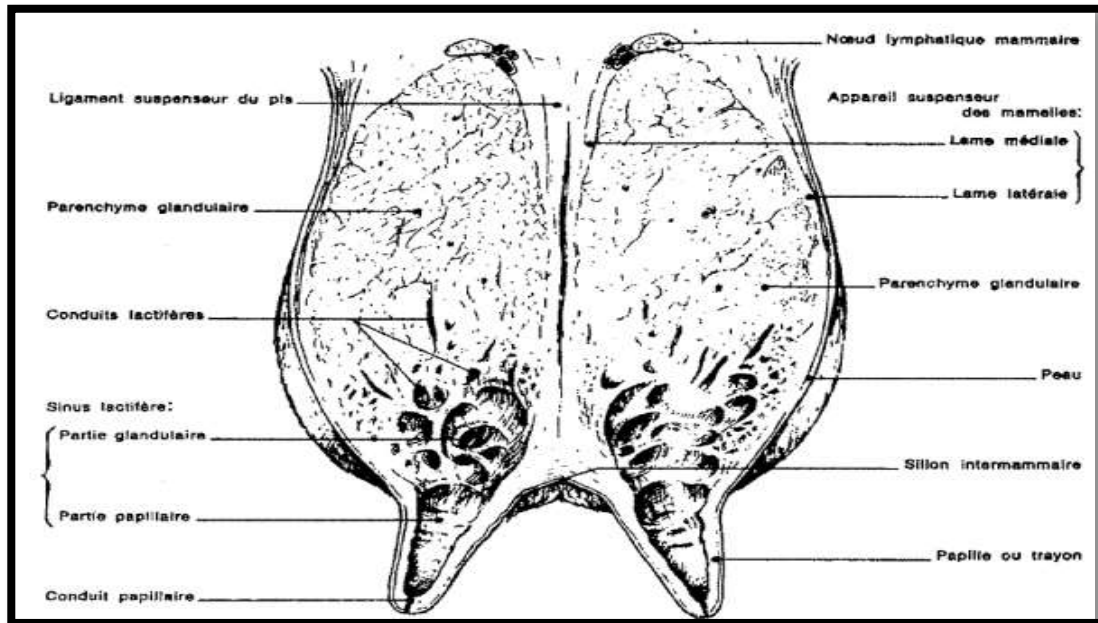


Figure 02: Conformation intérieure des mamelles de la vache (Barone, 1978).

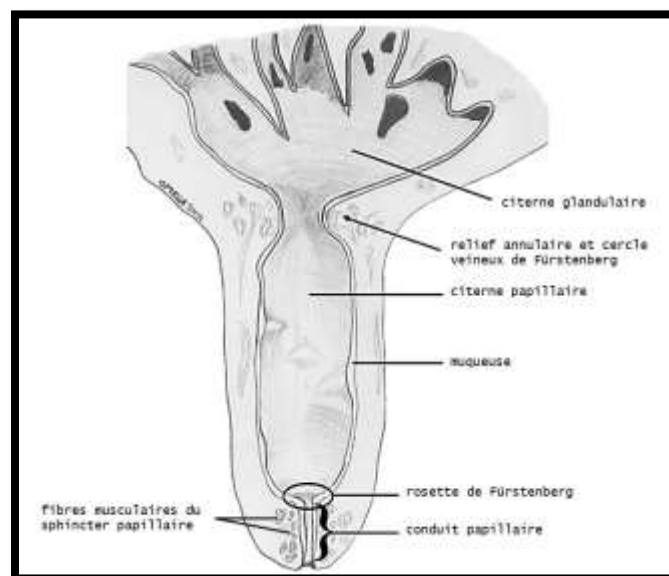


Figure 03 : Anatomie du trayon chez la vache (Couture et Mulon., 2005).

1.3. Les vaisseaux et les nerfs :

Pendant l'allaitement, le taux de sucre dans le sang de la mère est 3 à 5 fois plus élevé que pendant la période de tarissement. En particulier, le système veineux est très développé.

Les réseaux artériels et veineux comprennent: deux artères mammaires et un réseau veineux sous-cutané. Le réseau sanguin est complété par un réseau lymphatique.

La majorité du système nerveux de la mamelle est constituée de fibres sensibles; il n'y a pas de moteur nerveux de mammifère; Au lieu de cela, les mécanismes hormonaux régulent le fonctionnement du corps des mammifères (**SOLTNER, 2001**).

2. La physiologie de la mamelle

La glande mammaire a pour rôle la production du colostrum et du lait destiné principalement à nourrir le petit, de sa naissance au sevrage. A l'exception du fer totalement absent de sa composition, le lait satisfait pleinement les besoins de survie et de croissance du petit jusqu'à ce qu'il acquiert la capacité de digérer d'autres aliments. L'obtention, grâce à la sélection génétique de races hautes productrices de lait, vient ajouter un aspect économique très marqué à l'importance biologique de la sécrétion lactée. Ces races assurent, en effet, des revenus considérables aux éleveurs spécialisés dans la production laitière.

Au niveau de la mamelle, la production du lait se fait en deux phases : la lactogénèse (ou déclenchement de la sécrétion du lait), et la galactopoïèse (ou entretien de la sécrétion lactée) (**CONCANNON et al., 1978**).

2.1. Mécanisme de la sécrétion de lait (lactation)

La production du lait se fait en deux phases :

- ❖ La lactogénèse ou le déclenchement de la sécrétion du lait,
- ❖ La galactopoïèse ou entretien de la sécrétion lactée.

La lactogénèse

Le terme lactogénèse est utilisé pour décrire l'ensemble des phénomènes et des facteurs associés avec l'initiation de la lactation et la synthèse du lait. Elle caractérise la première phase de l'activité de la glande mammaire ; c'est la phase de déclenchement de la lactation. Elle donne naissance au colostrum qui diffère du lait par sa composition et le mécanisme de sa production ; il s'agit d'une sécrétion mérocrine (libération par exocytose).

La lactogénèse est rendue possible par la disparition de l'équilibre hormonal de la gestation qui permet à la prolactine d'agir sur la glande mammaire (**Concannon et al., 1978**).

Ces modifications hormonales entraînent une synthèse abondante du lait. La sécrétion est ensuite maintenue par les tétées ou les traites quotidiennes : c'est la lactopoïèse.

La galactopoïèse

La production de lait par les glandes mammaires, après la mise bas, se maintient grâce à la tétée ou à la traite. La galactopoïèse est la phase d'entretien de la lactation.

L'excitation de la glande est à l'origine de deux réflexes : le réflexe galactopoïétique qui favorise la production du lait et le réflexe galacto-cinétique qui provoque la vidange des mamelles indispensable à la poursuite de la sécrétion lactée.

2.2. Les mécanismes de défense de la mamelle

La mamelle, en cas d'agression, fait intervenir de nombreux mécanismes de défense spécifiques ou non spécifiques impliquant non seulement l'organe lui-même mais aussi l'organisme animal.

2.2.1. La défense locale

A l'invasion de la glande mammaire par les microorganismes, le canal du trayon constitue la barrière naturelle, et sans doute la plus efficace, qui s'oppose aux infections de la mamelle (**POUTREL, 1985**). Ainsi, les moyens de défense locale sont représentés par :

Le sphincter : il est formé de fibres musculaires lisses, disposées autour du canal papillaire. Il joue le rôle de fermeture et d'ouverture du canal du trayon et s'oppose ainsi à la pénétration des germes.

L'ubiquitine est une protéine bactéricide produite par la rosette de Fürstenberg. La rosette de Fürstenberg sert également de point d'entrée des leucocytes dans la glande mammaire.

La kératine tapisse la paroi du trayon et a une action bactéricide par la captation des bactéries. Les protéines basiques et les lipides de la kératine du canal auraient aussi un pouvoir bactériostatique ou bactéricide (**POUTREL, 1985**).

L'éjection du lait est un phénomène qui s'oppose à la progression des bactéries. En effet, la traite, par son effet vidange, jouerait un rôle important en réalisant un nettoyage des parties distales du trayon.

❖ Les moyens physiques

Les poils représentent la première barrière physique en empêchant le contact entre la peau et d'éventuels agents pathogènes et en minimisant les atteintes physiques ou chimiques. Enfin ils peuvent également arborer de nombreux microorganismes sur lesquels nous reviendrons.

La couche cornée forme la base de la défense physique. Elle se compose comme nous l'avons vu de cellules kératinisées très serrées et est imperméabilisée par une émulsion de sébum et de sudation. En plus de ses propriétés physiques, les émulsions fournissent une barrière chimique aux éventuels pathogènes.

Les acides gras qui la composent, notamment l'acide linoléique, ont des propriétés antibactériennes et antifongiques. Des substances hydrosolubles contiennent également des sels inorganiques et des protéines inhibant la croissance des microorganismes.

❖ Les moyens mécaniques

Le conduit papillaire constitue la première barrière contre les micro-organismes grâce à trois structures :

- ✓ L'ostium papillaire et son sphincter musculaire permettent la fermeture du canal du trayon ce qui empêche la remontée des germes entre chaque traite.
- ✓ La kératine, en couche épaisse et anfractueuse qui tapisse la paroi du conduit papillaire, adsorbe les germes puis les élimine lors de la traite.
- ✓ La rosette de Fürstenberg et ses plis, qui s'imbriquent les uns dans les autres, forme un obstacle à la progression des germes. De plus, elle contient des amas lymphoïdes permettant une réaction immunitaire de première ligne.
- ✓ Enfin la peau du trayon glabre sécrète une pellicule hydrolipidique empêchant l'adhésion et la multiplication des bactéries (**Barone, 2001**).

❖ Moyens immunitaires

Le système immunitaire se décompose en deux types d'immunité : l'immunité innée et l'immunité adaptative. Pour lutter contre les infections intra-mammaires, le lait doit tendre à ressembler aux exsudats inflammatoires des autres tissus. Ceci est compliqué du fait de son volume et de sa composition. L'effet de dilution et le blocage des facteurs immuns limitent la capacité de la mamelle à réagir à une infection. Il faut donc un nombre plus important de cellules de l'immunité et de facteurs humoraux (**BURTON et ERSKINE, 2003**).

❖ Les moyens bactéricides

Le système du complément joue un rôle dans la défense contre la plupart des infections bactériennes en complétant l'action des anticorps, et en provoquant la lyse de ces bactéries. Il joue également un rôle dans l'attraction de cellules phagocytaires sur le site de l'infection et augmente la capacité de ces cellules à ingérer et à détruire les micro-organismes (**WILLIERS, 1995**). Les concentrations en complément sont élevées dans le colostrum, dans le lait des quartiers enflammés et durant l'involution. Cependant durant la lactation, la voie classique n'est pas activée, non pas par manque d'anticorps mais parce que le composé C1q est en faible concentration dans le lait normal : 0,15 à 0,25 µg / ml, contre 200 µg/ml dans le sang, et il constitue de ce fait le principal facteur limitant de la réaction (**RAINARD et**

POUTREL, 1995). Ces faibles concentrations font supposer que le complément joue seulement un rôle bactéricide mineur dans la glande mammaire (**SORDILLO et al., 1997**).

2.2.2. La défense générale

Une fois la barrière locale franchie, la glande, en elle-même relativement désarmée, assure la plupart de ses moyens de défense par l'intermédiaire de la réaction inflammatoire. Celle-ci mobilise des protéines plasmatiques, comme les immunoglobulines, la transferrine et les cellules sanguines telles que les polynucléaires neutrophiles, les cellules lymphoïdes et les macrophages. La synthèse locale de la transferrine est également stimulée (**RAINARD, 1985**).

En effet, en dehors de la période colostrale, le lait de vache est relativement pauvre en immunoglobulines.

L'augmentation de la perméabilité vasculaire qui accompagne l'inflammation permet le passage des immunoglobulines du sang (IgG1, IgG2, IgM), simultanément à la sérumalbumine qui est un bon indicateur de l'amplitude de la réaction vasculaire. Les immunoglobulines du type IgA n'interviennent que lorsque la mamelle est déjà le siège de l'infection (**DUPONT, 1980**).

❖ Les moyens cellulaires

Les mécanismes de défense cellulaire de la glande mammaire sont composés des polynucléaires neutrophiles, des macrophages et des lymphocytes. Les polynucléaires neutrophiles (PMN) de la glande mammaire constituent la première ligne de défense cellulaire contre les bactéries mammopathogènes et représentent 90% des cellules dans la sécrétion lactée lors de mammites. Les étapes conduisant à la destruction des bactéries par les PMN passent par leur recrutement à la faveur de la libération des cytokines, des interleukines (IL-8, IL-1) et de la prostaglandine (F2 α) (**VIGUIER et al., 2009 ; SEMNANI et al., 1993**). Ces cytokines favorisent l'afflux massif des PMN au niveau du site de l'infection. Les bactéries phagocytées sont tuées par l'action des ions superoxydes (O $_2^{\circ}$) et du peroxyde d'hydrogène (H $_2$ O $_2$). Les macrophages représentent, eux, le type cellulaire dominant du lait provenant d'une mamelle saine. Ces cellules interviennent aussi dans la phagocytose et participent à la réponse immunitaire spécifique en jouant un rôle dans le déclenchement et l'expression des réponses immunitaires, après digestion et présentation des antigènes, via l'activation des lymphocytes (**HADDADI, 2006**). Quant aux lymphocytes, une fois activés, ils produisent les anticorps.

Le nombre de cellules somatiques par ml reflète l'intensité de l'inflammation. Le comptage cellulaire somatique est inférieur à 100 000 cellules/ml dans le lait issu de vaches saines, alors qu'il est supérieur à 200 000 dans une glande mammaire infectée.

❖ **Les moyens non cellulaires**

Elles passent par différentes sécrétions de la mamelle. Les immunoglobulines, dans un premier temps, spécifiques des pathogènes, interviennent dans l'opsonisation, favorisant la phagocytose des micro-organismes. Elles sont sécrétées par les plasmocytes. Pendant la lactation, la concentration en anticorps est faible comparativement à celle retrouvée dans le sérum et dans le colostrum

❖ **La lactoferrine** n'a que peu d'effet en lactation au vu de sa concentration ; son activité, notamment bactériostatique est quant à elle démontrée pendant le tarissement.

Cette protéine, synthétisée majoritairement par les lactocytes possède la capacité de bloquer le fer, nécessaire à la croissance de bactéries pour rendre indisponible aux bactéries. Le citrate est en effet lui aussi capable de lier le fer mais ce dernier reste utilisable par les micro-organismes. Les concentrations de citrate diminuent au tarissement au contraire de la lactoferrine, renforçant l'effet réel de la lactoferrine (**KUTILA et al., 2003**).

❖ **Lelysozyme**, bien que capable de lyser les peptidoglycanes des parois bactériennes est en trop faible quantité dans les sécrétions mammaires pour avoir une importance réelle dans les défenses naturelles de la mamelle (**LE PAGE et POUTREL, 2007**).

Lalactoperoxydase détruit ou inhibe un grand nombre d'espèces bactériennes en produisant de l'hypothiocyanite à partir de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène. Son efficacité est plus importante en lactation du fait d'un pH plus favorable à son activité (**LE PAGE et POUTREL, 2007**).

Chapitre II :

***LES MAMMITES DE LA
VACHE LAITEIRE***

Mammites chez les bovins

1. Définition

Une mammite est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle, provoquée généralement par une infection bactérienne. Il existe des mammites causées par des levures (*Candida*), des algues microscopiques, ou suite à un traumatisme de la mamelle, ou encore suite à des désordres physiologiques, mais celles-ci sont beaucoup plus rares (**Bonnefont, 2011**).

Les infections mammaires peuvent être ou non associées à des signes cliniques, on distingue alors les mammites cliniques des mammites sub-cliniques. Parfois les germes s'installent de façon durable dans la glande mammaire, on parle alors de mammites chroniques (**Gedilaghine, 2005**).

2. Etiologie

La majorité des infections sont d'origine bactérienne. Les mammites mycosiques sont rares. Il est important de garder à l'esprit que des micro-organismes peuvent parfois être excrétés dans le lait même en l'absence de symptômes cliniques chez le mammifère, comme dans les cas de tuberculose, para-tuberculose, salmonellose, listeria et brucellose.

Généralement une seule espèce bactérienne est en cause, plus rarement l'association de deux espèces est possible. On considère d'ailleurs que la présence de plus de deux germes dans un lait de mammite signe une contamination du prélèvement.

Traditionnellement on classe les espèces bactériennes responsables de mammites en deux groupes (cf. tableau 1) :

Les espèces pathogènes majeures sont potentiellement responsables de mammites cliniques et regroupent les streptocoques (*Streptococcus uberis*, *Str. dysgalactiae subsp. dysgalactiae1*, *Str. agalactiae*), les entérocoques (*Enterococcus faecalis*...), les staphylocoques à coagulase positive (CPS) (*Staphylococcus aureus subsp. aureus*), ainsi que les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae3*, *Enterobacter aerogenes*...). Ces germes sont responsables de la majorité des mammites cliniques dans 80-90 p. cent des cas (**ARGENTE et al 2005, FABRE et al 1997**).

Plus rarement on peut isoler les *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, des mycoplasmes et des bactéries anaérobies.

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

Tableau1: Germes responsables de mammites et leur réservoir primaire (QUINN et al., 1994).

	Genre	Espèces	Réservoirs
Germes pathogènes majeurs	<i>Streptococcus</i>	<i>agalactiae</i>	mamelle
		<i>dysgalactiae</i>	cavité buccale, génitale
		<i>bovis</i>	Tube digestif,
		<i>uberis</i>	vagin peau
	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i>	Fèces, peau
		<i>faecium</i>	
	Staphylocoques à coagulase +	<i>S. aureus</i>	Peau, trayon,
		<i>S. intermedius</i>	muqueuses, homme
<i>S. hyicus</i>			
Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i>	Fèces	
	<i>Klebsiella</i>	Litière	
	<i>Pneumoniae</i>		
Anaérobies	<i>Arcanobacterium</i>	Bovins, peau,	
	<i>Pyogenes</i>	Muqueuses	
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	Sol, fèces, eau	
	<i>Aeruginosa</i>		
<i>Mycoplasma</i>	<i>M. bovis</i>	Bovins	

		<i>M. bovigenitalium</i>	
	Autres	<i>Mycobacterium bovis</i> <i>Nocardia asteroides</i> <i>Bacillus cereus</i>	Bovins Environnement
Germes pathogènes mineurs	Staphylocoques à coagulase -	<i>S. capitis</i> <i>S. chromogenes</i> <i>S. cohnii</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. hominis</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>S. sciuri</i> <i>S. warneri</i> <i>S. xylosum</i>	Bovins ou homme
	Corynébactéries	<i>Corynebacterium Bovis</i>	Bovins

Mais cette dichotomie entre pathogènes majeurs et pathogènes mineurs tend actuellement à être remise en cause devant la part croissante des isollements de staphylocoques à coagulase négative dans les laits de mammites cliniques (MYLLYS et al., 1994).

3. Différent type des mammites :

3.1. Mammite clinique :

Une mammite clinique se caractérise par une modification de la sécrétion de la glande. La quantité et l'aspect du lait changent reflétant une perturbation des fonctions de sécrétion. En plus de ces symptômes fonctionnels, on peut observer les manifestations classiques de l'inflammation : rougeur, chaleur, douleur, tuméfaction de la glande et l'aspect hypertrophié des ganglions rétro mammaires. On parle alors de mammite aiguë. Si le quartier se sclérose et s'atrophie on parle de mammite chronique. Dans certains cas on observe également des symptômes généraux de type fièvre, abattement, anorexie, etc., liés à l'endotoxémie induite par l'infection. Ils se traduisent par une altération de l'état général (abattement, hyperthermie, arumination, déshydratation, troubles locomoteurs...). On parle alors de mammite suraiguë. Nous allons maintenant évoquer les différents types de mammites cliniques rencontrés. **(Jean, 2010)**

3.1.1. Mammites suraiguës

Elles apparaissent brutalement et évoluent rapidement vers des symptômes délétères.

Le lait généralement est très aqueux de couleur jaunâtre à rouge foncé, voire purulent et très diminué en quantité. Le quartier infecté est souvent congestionné, chaud mais parfois à l'inverse, il est totalement flasque voire froid. L'état général est fortement altéré avec état de choc, polypnée, hyperthermie ou hypothermie, déshydratation, arumination, évoluant couramment vers le décubitus et la mort de l'animal. Deux formes de mammites suraiguës se distinguent **(Emmanuel, 2008)**.

3.1.1.1. Mammites paraplégique « colibacillaires »

Ce sont les mammites suraiguës les plus observées. La vache est soit debout mais choquée (hyperthermie, déshydratation, tachypnée, tachycardie avec parfois diarrhée plus ou moins aqueuse) soit en décubitus avec normo thermie ou hypothermie, résultat de l'état de choc provoqué par les endotoxines bactérienne et une bactériémie.

La mamelle ne présente pas toujours de signes locaux à part la modification de la sécrétion lactée, mais parfois cette dernière peut être retardée par rapport aux symptômes généraux. Dans certains cas, le quartier est flasque et mou et ne produit plus de lait. Ces mammites sont dites «colibacillaires » car souvent causées par une infection à entérobactéries. **(Emmanuel, 2008)**. Les symptômes locaux peuvent être frustrés, il convient alors de faire le diagnostic différentiel avec une fièvre vitulaire.

3.1.1.2. Mammites « gangreneuses »

L'inflammation du quartier atteint est très violente, puis suivie d'une nécrose avec apparition d'un sillon disjoncteur séparant les tissus sains des tissus nécrosés froids, noirâtres à gris plombé. La sécrétion est rare et nauséabonde. L'évolution rapide conduit à la mort en l'absence de traitement. Le germe mis en cause est *Staphylococcus aureus*, parfois associé à des anaérobies (*Clostridium spp*) (Emmanuel, 2008).

Certains auteurs décrivent la mastectomie comme traitement de choix dans les mammites gangréneuses chez les ruminants

3.1.2. Mammites aiguës

Il s'agit de mammites courantes ; la zone affectée est manifestement enflammée (rougeur, gonflement, gêne, chaleur) et la qualité et la quantité du lait sont compromises, bien que l'état de santé général de l'animal ne soit pas affecté ou très peu. Cette symptomatologie peut apparaître à n'importe quel stade de la lactation et n'est pas spécifique à une espèce bactérienne donnée. Toutes les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires sont isolées (REMY, 2010).

3.1.3. Mammite subaiguë et aigue :

Ce sont les mammites courantes, avec inflammation du quartier plus ou moins marquée, et une sécrétion modifiée avec présence de grumeaux. Les symptômes généraux sont peu marqués.

Une hyperthermie n'est pas systématique. L'évolution est plus lente, et en l'absence de traitement, une chronicité apparaît avec enkystement des bactéries dans le parenchyme mammaire. On rencontre toutes les espèces bactériennes responsables des d'infections mammaires lors d'isolement (Noireterre, 2006).

2.1.3 Mammite chronique :

Elle est le plus souvent secondaire à une mammite aiguë. Les symptômes locaux sont discrets, lentement le quartier évolue vers l'atrophie du fait de l'installation de zones de fibrose cicatricielle. La mamelle devient noueuse à la palpation. La sécrétion n'est souvent modifiée qu'en début de traite. L'évolution est lente vers le tarissement de la sécrétion au bout de plusieurs mois. Tous les germes donnant des mammites peuvent être isolés (Noireterre, 2006).

3.2. Mammites sub-cliniques

Les mammites sub-cliniques sont insidieuses et caractérisées par une absence de signes cliniques. L'inflammation due à l'infection s'accompagne essentiellement d'un afflux de cellules somatiques dans le lait du quartier infecté, particulièrement les polynucléaires

neutrophiles, et par une modification de la composition chimique du lait (baisse des taux de caséine et de lactose, augmentation des taux d'électrolytes). Le diagnostic des mammites sub-cliniques repose sur la numération des cellules somatiques du lait, la mise en évidence des modifications chimiques et la recherche de la bactérie en cause. L'augmentation des cellules somatiques peut être révélée par des méthodes de comptage, comme le California Mastitis Test (CMT), le Fossomatic®, le Coulter Conter® la conductivité électrique. Lors de mammites sub-cliniques, les bactéries peuvent persister dans le pis et l'infection devenir chronique suite à l'expression de certaines propriétés. Par exemple, la formation d'un bio-film, la survie à l'intérieur des cellules épithéliales mammaires et/ou l'absence de synthèse d'une capsule sont considérées comme trois propriétés impliquées dans la chronicité d'une infection à *S. aureus* elles sont beaucoup plus fréquentes que les infections cliniques, plus insidieuses car difficilement détectables (**BOUSQUET et al., 2005**).

Les mammites sub-cliniques, beaucoup plus fréquentes que les mammites cliniques, sont insidieuses et responsables de pertes économiques importantes par une baisse de la production laitière et une augmentation des comptages cellulaires du troupeau (**Noireterre, 2006**).

4. Pathogénie

L'établissement de l'infection et le déclenchement de la mammites dépendent à la fois de la virulence des micro-organismes et des capacités de la défense naturelle ou induite de l'hôte (**Harmon, 1994**). Selon **Fabre et al., (1997)** l'ouverture du sphincter et l'écoulement du lait peuvent favoriser la diffusion de l'infection.

L'infection peut guérir spontanément ou évoluer vers une forme plus sévère avec des signes cliniques (mammites clinique) ou bien encore persister sous une forme inapparente (mammites subclinique) (**Poutrel, 1985**).

Plusieurs étapes se succèdent lors du processus infectieux :

4.1. La phase d'invasion (Pénétration des microorganismes) :

A part le cas particulier des mammites tuberculeuses et brucelliques d'origine hématogène, les germes pathogènes pénètrent généralement dans le quartier par le canal du trayon. Celui-ci constitue une première barrière contre la colonisation de la mamelle : le sphincter à la base du canal assure l'étanchéité entre la mamelle et le milieu extérieur. Les cellules kératinisées de la muqueuse se desquament régulièrement, participant à l'élimination des germes en début de traite. Ainsi la pénétration des germes se réalise au moment où le sphincter est ouvert, durant la traite et surtout en fin de traite (le sphincter reste ouvert environ une demi heure après la traite), mais aussi à l'approche du vêlage, ou au tarissement

ou le sphincter laisse suinter voire couler un peu de lait par la pression de celui-ci. (Emmanuel, 2008).

La pénétration des bactéries se produit suivant les mécanismes suivants ;

4.1.1. Par la multiplication des germes présents sur le trayon :

Ces germes profitent de l'ouverture du trayon en post-traitement pour pénétrer le canal. Les lésions du trayon et du sphincter (verruque, gerçure, blessure, éversion du sphincter) favorisant la multiplication des germes. Un contact précoce entre le trayon et l'environnement (pâturage, litière, etc...) est aussi un facteur prédisposant l'infection du canal par des pathogènes après le traitement (Rakotoandrindrany, 2007).

4.1.2. Par l'introduction de germes par l'être humain :

Que ce soit par l'éleveur ou le vétérinaire, l'introduction dans le sinus lactifère de germes est réalisée par la mise en place de traitement intra mammaire ou de sondage du canal du trayon de manière non adéquate (défaut d'hygiène).

Après cette étape, les bactéries se retrouvent dans le lait intra mammaire. C'est le site infectieux obligatoire pour tous les types de mammites. (Rakotoandrindrany, 2007).

4.2. La phase d'infection :

✓ La propriété d'adhésion (adhésine) des germes à l'épithélium du sinus lactifère (fibronectine, glycoprotéine) (Hanzen, 2014).

✓ Les germes se multiplient et prolifèrent avec la production des enzymes et toxines, qui vont provoquer des lésions du tissu des grands canaux lactifères (dégénérescence vacuolaire des cellules) avec pour conséquence des modifications quantitatives et qualitatives de la production (Hanzen, 2014).

✓ L'initiation du processus inflammatoire caractérisé par la libération des substances immuno-modulatrices (cytokines) et un afflux important de polynucléaires neutrophiles et de diverses substances effectrices (Immunoglobulines, complément, lactoferrine...) en provenance de la circulation sanguine où elles constituent la deuxième ligne de la défense mammaire, l'afflux est plus ou moins important selon l'espèce bactérienne responsable et l'importance de la contamination. (Faroult, 2000).

4.3. Evolution :

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

a- Vers la guérison spontanée, lorsque la réponse cellulaire est de bonne qualité.

b- Vers l'extension de l'inflammation et de l'infection, lorsque le micro-organisme est très pathogène. On observe alors des manifestations cliniques de mammites.

c- **Vers la persistance de l'infection dans la glande**, on parle de mammite sub-clinique, un équilibre s'installe entre l'infection et la réponse inflammatoire de la glande. Lorsque l'équilibre se rompt l'expression clinique reprend (Noireterre, 2006).

5. Importance des mammites :

5.1. Importance médicale :

Les mammites suraigües peuvent causer la perte de l'animal ou tout du moins du quartier atteint. De même les mammites sub-cliniques sont souvent difficilement curables et entraînent la réforme de l'animal et son abattage précoce. Les mammites aiguës peuvent intervenir comme facteurs prédisposant à d'autres maladies de la vache laitière, comme les déplacements de caillette, des arthrites ou des endocardites secondaires au passage du germe dans la voie sanguine. D'autre part, les vaches atteintes de mammite même modérée, présentent des modifications de posture et une hyperalgie durable (de quelques jours à quelques semaines) (Berthelot et Bergonier., 2006).

5.2. Importance sanitaire :

Le lait de mammite clinique n'est pas commercialisé mais celui des infections sub-cliniques peut entrer dans la production de fromage, lait et autres produits laitiers. La contamination de ceux-ci par certains germes (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*) peut être responsable de toxi-infections alimentaires en l'absence de pasteurisation (Gedilaghine., 2005).

5.3. Importance économique :

Les infections mammaires en élevage bovin laitière sont la principale cause, loin devant la reproduction, de pertes économiques pour des raisons sanitaires : lait non produit, non commercialisé, moindre paiement du lait pour qualité cellulaire insuffisante, réforme des vaches non soignables, couts des traitements et temps passé à les exécuter (Dumas et al., 2004). Le cout moyen des mammites bovines, selon Araujo (2007) est de 78 € par vache et par an. L'incidence moyenne des mammites est variable selon les études, d'environ 50 cas pour 100 vaches et par an en Grande-Bretagne (Green, 2007) et de 22 à 140 cas pour 100 vaches et par an en France (Berthelot et Bergonier., 2006), mais reste élevée malgré l'amélioration des conditions d'élevage et de traite. Le paradoxe est que, malgré le cout très important des infections mammaires (2 fois plus que les maladies de la reproduction) (Araujo, 2007), elles sont les moins bien gérées par l'éleveur. Dans 95 % des cas, les mammites cliniques sont traitées par l'éleveur sans l'intervention du vétérinaire, alors que couramment les troubles de reproduction sont suivis par le praticien ou le technicien du centre d'insémination.

Chapitre III :

DIAGNOSTIC DES
MAMMITES



1. Méthode des diagnostics

1.1-Diagnostic clinique

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des symptômes généraux (baisse d'appétit, fièvre, coma,...), locaux (rougeur, douleur, chaleur et tuméfaction) et fonctionnels (modifications d'aspect, de couleur et d'homogénéité du lait), caractéristiques de l'inflammation de la mamelle. L'intensité de ces signes est variable. Ces signes sont constatés lors de l'examen clinique des vaches avec l'observation des premiers jets de lait. (Figure 4)

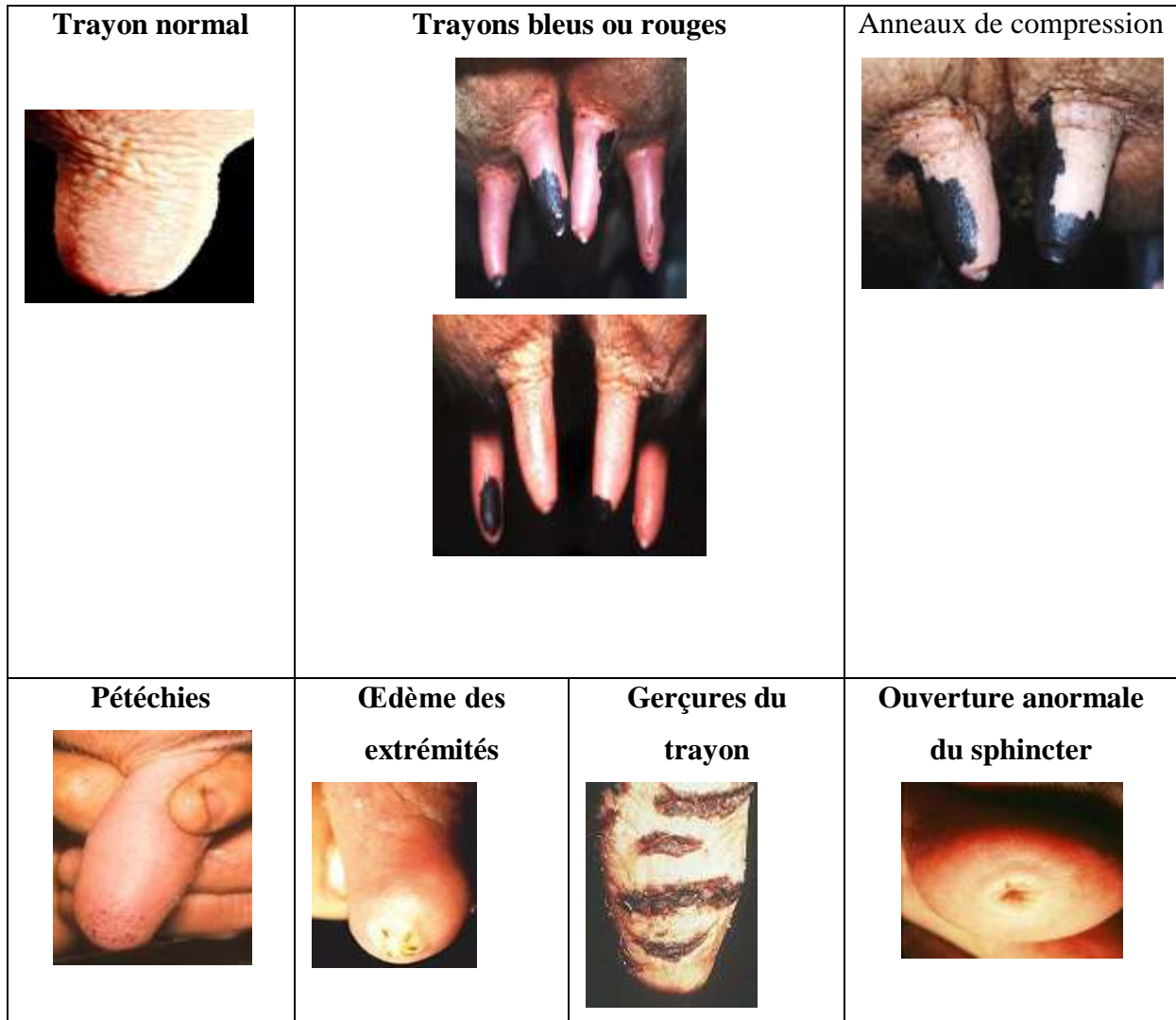


Figure 04 : Lésions du trayon de type vasculaire (DUREL et al., 2011 et photos du Teat Club International).

1.1.1. Signes généraux

Il est basé sur les éléments cliniques et les tests complémentaires faciles à réaliser sur le terrain tels que le Californian Mastitis Test (CMT.) L'examen clinique de la mamelle et des sécrétions mammaires constitue le pilier de la démarche diagnostique des mammites cliniques. Il constitue, en plus, le moyen le plus simple et le moins onéreux (**DUREL et al., 2003**). Cependant, pour être efficace, ce diagnostic doit suivre une démarche précise et méthodique axée sur trois volets :

✓ **Un examen visuel de la mamelle** : Il s'agit d'évaluer les caractères physiques de la mamelle afin de détecter des modifications perceptibles à l'examen de l'animal à distance.

✓ **Une palpation de la mamelle** : Elle est réalisée sur une mamelle vide après la traite. Elle permet d'observer la qualité de la peau qui recouvre l'organe, la texture et les anomalies perceptibles dans le tissu conjonctif, la présence des signes inflammatoires (douleur, rougeur, tuméfaction et chaleur), la présence d'une lymphadénite. Cette palpation permettrait un diagnostic précoce de certaines affections et le pronostic des infections anciennes ou chroniques (**DUREL et al., 2003**).

1.1.2. Signes locaux

On doit chercher à apprécier les modifications de la qualité des sécrétions mammaires telles que la couleur (jaune au rouge sombre), le goût et l'odeur (odeur d'œuf pourri en cas d'infection par les germes pyogènes). De même, la consistance, la viscosité, et l'homogénéité peuvent aussi être évaluées. Ainsi, l'examen clinique est essentielle, et la notation des signes cliniques locaux et généraux a, en soi, une valeur diagnostique et pronostique (mammitte aiguë ou subaiguë, grave ou non). (**DUREL et al., 2003**). De plus, il a été tenté d'établir un lien entre les signes cliniques et l'étiologie de l'infection.

1.2. Diagnostic expérimentales

Les infections mammaires étant la plupart du temps inapparentes, le simple examen clinique des quartiers et du lait ne suffit pas dans tous les cas pour les diagnostiquer. C'est pourquoi on a alors recours aux méthodes de dépistage plus fines, praticables en routine à grande échelle et peu onéreuses. C'est le cas des méthodes de numération des cellules du lait, qui peuvent s'appliquer indifféremment à des échantillons de lait de quartier, de lait de mélange individuel (des quatre quartiers) ou de lait de tank (**SERIEYS, 1985b**). Il convient d'ajouter à ces tests, le Californian Mastitis Test (CMT) qui est un test fiable et facile d'utilisation à l'étable.

1.2.1-Diagnostic direct

1.2.1.1-Analyse bactériologique

Cet examen permet un diagnostic de certitude de l'infection mammaire et mettre en évidence la présence et l'identification des bactéries pathogènes présentes dans le lait mammitique. Par ailleurs, elle est coûteuse, longue et nécessite la présence d'un personnel qualifié pour les analyses. Ensuite, faire une identification des espèces des micro-organismes avec la précision et de certitude à l'aide des galeries standardisées (Api E, Api strept,...), et enfin réaliser un antibiogramme pour choisir au mieux l'antibiotique à utiliser (**Bergonier et al., 1997**). Le prélèvement de lait doit être réalisé de manière aseptique que possible. La méthodologie sera détaillé dans la partie expérimentale.

En cas de mammitite, on obtient un ou deux types de colonies bactériennes. Si plus de deux types de colonies sont isolés c'est que le prélèvement est contaminé, donc inexploitable.

1.2.1.2-Analyse mycologique

Cet examen est réalisé par des méthodes microscopiques, qui permettent le diagnostic de l'infection mammaire et de mettre en évidence les éléments fongiques : levure, filament et mycéliums présents dans le lait mammitique.

Le prélèvement de lait doit être effectué avec des précautions d'asepsie et d'antisepsie.

1.2.2. Diagnostic indirect

Pour ce type de diagnostic, il existe une variété de test entre autre on peut citer :

- Le California Mastitis Test (C.M.T)
- Les concentrations cellulaires somatiques du lait (CCS)
- La conductivité électrique du lait.

1.2.2.1. Le California Mastitis Test (C.M.T) :

Ce test développé par Schalm et Noorlander en 1957 s'adresse essentiellement à la détection des mammites sub-cliniques directement dans l'étable. Le CMT encore appelé test de Schalm est le test le plus pratique et le plus répandu dans le monde. Est une méthode semi-quantitative de détection cellulaire dans le lait.

1.2.2.2. Les Concentrations cellulaires somatiques du lait (CCS) :

C'est une méthode indirecte, pour détecter les infections intra-mammaire, sans identification de l'agent pathogène, mais elles ont souvent l'avantage d'être mises en œuvre plus facilement.

Chez les vaches saines, les valeurs des CCS sont faibles avec des pourcentages différents : principalement des macrophages (45-85%), des polynucléaires neutrophiles (10-35%) des

lymphocytes (10-20%) et moins de 2-3% d'épithélioctes, cellules provenant de la desquamation continue de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères (**Paape et al., 2001**). Lors de processus inflammatoire de la mamelle, les cellules somatiques restent les mêmes mais dans des proportions différentes, avec une augmentation importante des neutrophiles dans le lait jusqu'à 90% des cellules somatique lors d'une diapédèse à partir du sang (**Cuccuru et al.,1997**).

La CCS du lait peut être considérée comme une estimation de la concentration en neutrophiles du lait et donc comme une caractérisation de l'état inflammatoire de la mamelle (**Bergonier et al., 2003**).

L'intensité de la réponse cellulaire est très variable. Selon la pathogénicité du germe en cause et les capacités de défense de l'animal. Lors d'une infection mammaire par des agents pathogènes majeurs induisent généralement une élévation des CCS plus importante que celles provoquées par des agents pathogènes mineurs (**Schepers et al., 1997**).

1.2.2.3. La conductivité électrique du lait :

Cette méthode de diagnostic plus récente s'adresse au dépistage non seulement des mammites cliniques mais également aux mammites sub-cliniques.

Il existe principalement un second critère indirect de mesure des infections intra-mammaire (IMI). Celui-ci repose sur la conductivité électrique du lait. Elle permet de mesurer les changements de concentration ionique du lait lors d'une inflammation (Une augmentation de la concentration en ions Na^+ et Cl^- avec une diminution de la concentration de K^+) qui est provoqué par les germes pathogènes. (**Kitchen et al., 1980**).

Elle permet de détecter 80% des mammites cliniques et 45% des mammites sub-cliniques (**Norberg et al., 2004**). Cette méthode permet un diagnostic très précoce avant l'apparition des premiers symptômes. Mais elle est extrêmement variable entre races, entre individus de la même race, selon le régime alimentaire, le stade de lactation, ce qui limite son efficacité dans la détection des IMI au sein d'un troupeau (**Hamann et Zecconi, 1998**).

Chapitre IV :

TRAITEMENT ET
PROPHYLAXIES
DES MAMMITES

I. Traitement

La mise en place d'une approche curative de la mammite dans un élevage n'est pas facile. Elle doit prendre en considération divers paramètres relatif au diagnostic (symptomatique étiologique, précoce ou tardif, individuel ou d'élevage), au germe (localisation au niveau des réservoirs, résistance), à l'antibiotique (propriétés pharmacodynamiques, pharmacocinétiques, interactions, efficacité), au moment du traitement (en lactation vs au tarissement), aux conséquences du traitement (aspects économiques, résidus, bonnes pratiques vétérinaires).

Il n'est pas inutile de rappeler que la réussite d'une antibiothérapie est liée à une intervention précoce de traitement dès l'apparition des premiers symptômes pour éviter l'extension ou la persistance de l'infection et augmenter les chances de réussite thérapeutique.

1-Mesures thérapeutiques

Moment du traitement :

Un traitement se doit d'être aussi précoce que possible, le moment idéal dépendra des symptômes présentés par l'animal. On privilégiera le traitement en lactation pour les mammites cliniques et le traitement au tarissement pour les mammites sub-cliniques.

En cas d'une mammite, les traitements vétérinaires reposent essentiellement sur l'utilisation d'antibiotiques. Selon la gravité des symptômes ils sont soit appliqués par voie générale, soit par voie galactophore. Soit par les deux voie dans les cas où les symptômes sont très prononcé (aigue ou suraiguë). (**Sutra et PoutreL, 1994**). Tout traitement par voie galactophore devra suivre le prélèvement total du lait. Il sera bien entendu précédé d'une désinfection correcte du trayon.

2. Médicaments utilisé et Voies d'administration

2.1-Médicaments utilisé

2.1.1.Fluidothérapie

Lors de déshydratation et surtout de choc, la fluidothérapie est la base du traitement de réanimation. L'état de choc est provoqué lors de mammites par la libération d'endotoxines par les agents pathogènes comme les entérobactéries ou par des exotoxines produites par les Staphylocoques, les streptocoques, les clostridies et *Trueperella pyogènes*(**LE PAGE et al. 2014**). Lors d'une déshydratation inférieure à 10 %, la fluidothérapie peut être réalisée avec une solution hypertonique de NaCl (entre 4,5 et 7,2 %) pour un volume maximal réhydrate à 0,9 % de 24 litres. En complément, la réhydratation orale est possible avec des volumes allant

de 10 à 30 litres par buvée spontanée ou drenchage (administration forcées par voie orale d'un liquide à l'aide d'une sonde). Les cellules sont plus déshydratées.

Une alcalose métabolique apparaît lors d'un état de choc suite à l'hypochlorémie provoquée par l'arrêt de la réabsorption de l'acide chlorhydrique par le duodénum.

L'utilisation de solutés acidifiant comme le NaCl permet de corriger ce trouble électrolytique. Pour la corriger, la fluidothérapie doit être alcalinisant avec un soluté comme le Ringer lactate par exemple. Les mammites dues à des entérobactéries comme *E. coli* induisent une hypocalcémie. Une complémentation calcique est à réaliser par voie orale. En effet, le calcium peut se révéler toxique pour le fonctionnement du cœur lorsqu'il est injecté par voie parentérale (LE PAGE et al., 2014).

2.1.2. Anti-inflammatoires

❖ Anti-inflammatoires Stéroïdiens(AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (ou «corticoïdes) inhibent la phospholipase A2 qui transforme les phospholipides en acide arachidonique précurseur des molécules pro inflammatoires comme les prostaglandines.

Le recours aux AIS est controversé. Ils seraient intéressants dans le traitement des mammites endotoxiques pour améliorer la guérison mais favoriseraient des infections cliniques chez les vaches ayant une mammite sub-clinique à staphylocoques via la baisse de l'immunité qu'ils peuvent induire (LE PAGE et al., 2014).

❖ Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens ont une action contre l'inflammation en inhibant des enzymes : les cyclo-oxygénases (COX), qui transforment l'acide arachidonique en molécules pro-inflammatoires comme les prostaglandines. Les AINS non sélectifs inhibent à la fois les COX 1 qui permettent la synthèse de prostaglandines physiologiques et des thromboxanes et les COX 2 qui interviennent dans la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires. Les AINS sélectifs sont spécifiques COX 2.

L'ensemble des AINS a un effet positif sur les signes cliniques de l'inflammation : flunixin, ketoprofène, carprofène, acide tolfénamique (MCDOUGALL et al., 2009).

2.1.3. L'antibiotique

Les familles d'antibiotiques se distinguent par leur aspect pharmaceutique : leur distribution, leur spectre d'activité, leur mode d'action. Voir leurs conditionnements, leurs associations et la durée recommandée de leur utilisation (Tableau 02).

Tableau 2 : Comparaison des propriétés des antibiotiques (FAROULT et SERIEYS HORS SERIE GTV, 2005)

Famille	Principaux représentants	Spectre	Mode d'action	Distribution
Pénicillines G	Benzylpénicilline - Pénéthacilline	Gram+ (strepto et staphylococcus à pénicillinases -)	Bactéricide	Extracellulaire limitée (benzylpénicilline) ou large (pénéthacilline)
Pénicillines A	- Ampicilline - Amoxicilline	Gram+ (strepto et staphylo à pénicillinases -) Gram- (E Coli)	Bactéricide	Extracellulaire large
Pénicillines M	- Cloxacilline - Oxacilline - Nafcilline	Gram+ (staphylo à pénicillinases + et strepto)	Bactéricide	Extracellulaire limitée
Céphalosporines	- Céfalexine - Céfazoline - Céfapirine - Cefalonium - Céfopérazone - Celfquinome	Gram+ Gram-	Bactéricide	Extracellulaire variable
Aminosides	- Néomycine - Framycétine - Gentamycine - Streptomycine	Gram+ (staphylo, pas d'activité sur les streptos) Gram-	Bactéricide	Extracellulaire faible

Polypeptides	- Bacitracine - Colistine	Gram+ (bacitracine) Gram- (Colistine)	Bactéricide	Extracellulaire faible
Macrolides et apparentés	- Spiramycine - Tylosine - Erythromycine - Novobiocine - Lincomycine - Rifaximine	Gram+ (surtout staphylos)	Bactéricide Bactériostatique	Intracellulaire large
Tétracyclines	- Tetracycline - Oxytetracycline	Gram+ Gram-	Bactériostatique	Large
Quinolone	- Fluméquine - Marbofloxacin - Enrofloxacin - Danofloxacin	Gram+ (staphylos) Gram-	Bactéricide	Large
Sulfamides		Gram+ Gram-	Bactériostatique	Large
Sulfamides et triméthoprime		Gram+ Gram-	Bactéricide	Intracellulaire large

2.2-Voies d'administration

2.2.1. Par voie générale

La voie parentérale ne se justifie qu'en cas de mammites suraiguës et aiguës pour lesquelles la septicémie est à craindre. Les inconvénients de cette voie sont surtout relatifs aux quantités d'antibiotiques employées et, donc le coût du traitement (proportionnel au poids de l'animal), et à la nécessité, en général, de traiter plusieurs jours (trois à cinq) et de faire des injections occasionnant des stress supplémentaires (DUREL et al., 2003). Rappelons que le transfert d'un antibiotique du sang vers le lait n'est optimal que s'il est de $PM < 1000$, liposoluble et basique.

Administrés par voie générale, certains médicaments (sulfonamides, pénicillines, aminoglycosides et céphalosporines) ne pénètrent pas facilement dans la glande mammaire

contrairement à d'autres (érythromycine, triméthoprime, tétracyclines et fluoroquinolones) (HANZEN, 2006).

A signaler qu'on associe souvent au traitement, à base d'antibiotiques, un traitement local et une corticothérapie pour réduire l'inflammation.

2.2.2. Par voie galactophore

L'infection ayant lieu par voie ascendante, l'introduction des antibiotiques galactophore semble être la plus justifiée, car dans les premiers stades de l'infection, les bactéries se trouvent, en général, dans les canaux excréteurs de la mamelle. Cette voie permet, donc, de mettre rapidement en contact les microorganismes et les anti-infectieux. Ainsi, on obtient, au site de l'infection, une dose suffisante susceptible d'éliminer la plupart des germes en cause ; et la durée des traitements peut être réduite parfois à une seule administration. L'infusion est facile à réaliser et la quantité d'antibiotique employée peut être réduite. Notons, cependant, que le traitement local présente quelques inconvénients. En effet, certains antibiotiques, lorsqu'ils sont mis en contact avec les polynucléaires, dépriment leurs activités ; en outre, on note également une élimination rapide du principe actif (90% en deux heures pour les antibiotiques peu liposolubles) (DUREL et al., 2003). Aussi, la réaction inflammatoire (congestion, œdème, caillots, pus,...) qui résulte de l'infection peut s'opposer à la diffusion des médicaments. De même, la composition physico-chimique du lait, très altérée, peut avoir une influence négative sur l'activité des antibiotiques.

II. Prophylaxies

Les mesures de lutte contre les mammites sont de nature médicale (traitement des animaux atteints ou stimulation des moyens de défense spécifique ou non spécifique) ou sanitaire (réforme des incurables, intensification de l'hygiène et de la technique de traite). Elles ont pour but essentiel de réduire la prévalence des infections dans le troupeau en agissant sur la persistance et/ou sur l'incidence des infections. Le choix de l'une ou l'autre mesure dépendra du résultat de l'analyse épidémiologique. Ce choix peut être limité par des contraintes d'ordre financier, et pratique (certaines mesures supposent des changements de la technique de traite, du personnel...) (FETROW, 1988).

Une hiérarchisation des mesures à prendre est donc indispensable pour distinguer les mesures prioritaires des mesures complémentaires. Des plans d'accompagnement ont été définis. Ils mettent l'accent sur 10 aspects essentiels :

1. Utilisation d'une bonne méthode de traite.
2. Utilisation et vérification d'une installation de traite adéquate.

3. Bonne gestion du tarissement.
4. Traitement approprié des vaches en lactation.
5. Réforme des cas chroniques.
6. Bon système de notation des données.
7. Maintien des animaux dans un environnement adéquat.
8. Contrôle régulier du statut sanitaire de la glande mammaire.
9. Contrôle régulier des mesures définies.
10. Définition d'objectifs (**FETROW, 1988**).

CHAPITRE V :

MATÉRIELS ET

MÉTHODES

Objectif:

Les pathologies mammaires sont liées à une grande perte économique dans l'élevage bovin (Perte des quartiers chez les vaches et/ou mort de jeune et d'adulte). Parmi, lesquelles les mammites cliniques constituent les pathologies mammaires dominantes. Cette constatation est bien observée sur le terrain malgré l'insuffisance des données algériennes enregistrées auprès des services concernés.

Pour cela nous avons entrepris cette étude sur les mammites cliniques des vaches au niveau de certaines régions de la wilaya de Djelfa. Dans ce contexte, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Déterminer la nature et la fréquence des germes responsables de ces infections mammaires (étude bactériologique) ;
- Évaluer la situation épidémiologique de ces mammites dans les élevages par l'élaboration d'une enquête. Cette dernière a été réalisée à travers un questionnaire adressé pour le vétérinaire et l'éleveur.
- Et en fin, en fonction des moyens, nous essayons de déterminer le profil de l'antibiorésistance des germes isolés.

Zone d'étude:

Cette étude s'est déroulée dans la wilaya de Djelfa, au niveau de régions suivantes : Al-Bireen, Massad, Ain Al-Chih, et Mejbara, et Ain oussara. Fayd al-Botma, Ain al-Camel, Muwaileh, Dar al-Shuyoukh

1- Matériel**1.1- Les animaux :**

Notre étude a porté sur un effectif de 30 vaches laitières en lactation. Les vaches étaient de différentes races et à différents stades lactation. Ces vaches ont été choisies après observation de l'état général de l'animal, et l'étude clinique des mamelles, ces vaches appartenant à des élevages bovins laitiers situés .

1.2. Fiche d'enquête :

Cette partie permettant l'évaluation des mammites sur le terrain et de récolter toutes les informations en relation avec le sujet, pour cela nous avons fait recours à un questionnaire qui a été distribué auprès des vétérinaires praticiens sur les sites choisis. Cette fiche d'enquête a porté sur les principaux points suivants :

- ✓ Estimation de la fréquence des mammites dans les élevages visités.
- ✓ L'effet des différents paramètres (stabulation, état de propreté, nature du sol, équipements et l'alimentation...), sur l'apparition des mammites.
- ✓ les tests de diagnostic sur lesquels se base le vétérinaire sur le terrain,
- ✓ déterminer les différentes molécules d'antibiotique utilisées et de la présence d'une éventuelle antibiorésistance.

1.3- Matériels de prélèvements :

Le matériel nécessaire pour le prélèvement :

- ✓ Coton hydrophile, compresse stérile et l'Alcool à 70 ° pour désinfecter les trayons.
- ✓ Glacière isotherme avec pains de glace.
- ✓ Pots de prélèvement stériles de 60ml.
- ✓ Feutre indélébile.
- ✓ Gants d'examen.

1.4- Matériel de laboratoire :

✓ Tout le matériel utilisé au niveau de laboratoire pour préparer les suspensions mères et les différents milieux de culture sont mentionné en annexe (1).

2- Méthodes :

Remarque: Pour une vache donnée, la présence de 2, 3 ou 4 quartier atteints, nous le comptons comme un seul cas de mammite).

2.1- Méthodes de détections des mammites cliniques

La détection d'un cas de mammite clinique dans un élevage bovin est basée sur différents signes symptomatiques retenus par l'observation de l'éleveur ou le vétérinaire. Les signes importants et caractéristiques sont :

- Altération de l'état générale (hyperthermie, anorexie, abattement, prostration)
- la marche raide-à jambes peut signifier une mamelle endolorie
- Palpation de la mamelle : détecter une induration éventuelle, des abcès....
- Couleur de la mamelle : rouge, violacée et parfois bleuâtres ou noirâtres.
- modification de la sécrétion lactée : aspect hémorragique, purulent ou présence des grumeaux dans le lait qui signent une atteinte de la mamelle.

La détection de ce type de mammite s'est meublée dans notre travail sur ces observations. Pour cela des échantillons du lait ont été prélevés pour faire l'objet d'une analyse bactériologique au laboratoire.

2-2 prélèvements :

2-2-1- le moment de prélèvement:

Durant un cas de mammite clinique : sont alors prélevés tous les quartiers présentant des signes cliniques de mammites incluant au minimum une modification apparente du lait observée sur le bol à fond noir (grumeaux) et/ou une modification du quartier. Ce premier prélèvement constitue le point de départ de l'étude du quartier. Il est soumis à un examen bactériologique. Le volume prélevé est de 10 à 15 millilitres environ.

2-2-2- la technique de prélèvement:

La valeur de l'examen bactériologique du lait de mammites dépend en grande partie de la qualité du prélèvement, qui dépend de la technique de l'opérateur. Notre technique de prélèvement suit les recommandations de Mialot (Mialot, 1983).

Les principales phases du prélèvement de l'échantillon de lait de quartier pour examen bactériologique sont les suivantes :

- 1/ Désinfecter les mains, en utilisant uniquement des gants à usage unique, et les jeter immédiatement après avoir terminé.
- 2/ Utilisez de l'eau pour le lavage.
- 3/ Lavez et séchez bien les tétines et lavez également la partie inférieure.

4/Utiliser de l'alcool pour le mamelon en utilisant de l'alcool dans une compresse stérile.

5/ Après s'être débarrassé du premier lait, un échantillon de lait est prélevé et placé dans une boîte stérilisée. La boîte est ouverte d'une main et le couvercle est maintenu entre l'index et le pouce tout en maintenant le tube incliné... tout en évitant la pénétration de poils et de poussières dans la boîte. Après cela, la boîte est bien fermée.

6/Identifier toutes les boîtes qui portent les échantillons avec des autocollants portant l'âge, l'heure, le nom du lieu d'où ils ont été prélevés...etc

7/Les échantillons sont placés dans la glacière et emmenés directement au laboratoire d'analyse, où il est permis de les conserver longtemps au congélateur.

Les échantillons analysés au bout de 48 heures ont été conservés à +4°C selon la norme ISO 17604, (2003).

2-2-3- Conservation des prélèvements

Concernant les échantillons traités au-delà de ce délai (48 H) ont fait l'objet d'une congélation -18°C. Celle-ci permet de garder les prélèvements pendant une longue durée avant de les analyser.

Un prélèvement du lait destiné à un examen bactériologique est utilisable pendant plusieurs semaines maintenu à - 18°C. Cependant cette congélation détruit un certain nombre de bactéries ce qui risque de fausser les résultats (Mialot, 1983).



Figure 05 : Technique du prélèvement du lait pour examen bactériologique (FRIHI et HADJADJ ., 2018).

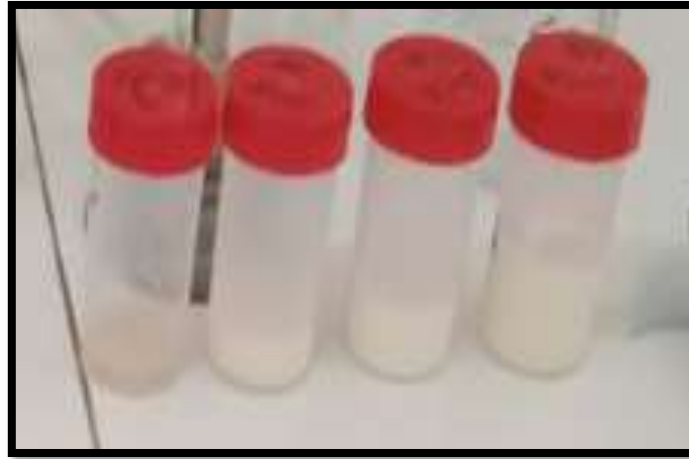


Figure 06: Echantillons prélevés sur les quatre vaches (originale).

2-3-Méthodes de laboratoire:

L'étude microbiologique a été réalisée par une analyse bactériologique des prélèvements de lait au niveau de laboratoire de microbiologie (faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Djelfa).

2-3-1- Préparation des milieux de culture :

Les différents milieux de culture ont été préparés à partir des milieux de base déshydratés. Les milieux de culture utilisés au cours de la présente étude sont :

- Mannitol Salt agar (Gélose hyper salée au mannitol).
- gélose de Héктоen.
- Gélose TSI (IPA).
- nutritive inclinée (GNI).
- bouillon cœur cerveau (BHIB).

Les techniques de préparation des différents milieux de culture sont détaillées en annexe (2).

2-3-2- Analyse bactériologique :

Dans cette partie nous avons visé la recherche et l'identification des bactéries les plus incriminées dans les mammites cliniques. Cette recherche s'est faite sur différentes étapes :

2-3-2-a- Enrichissement :

Cette étape consiste à ensemencer 1 ml du lait à l'aide d'une micropipette dans un tube de bouillon cœur cerveau (BHIB), et incuber à 37°C pendant 24.

2-3-2-b- Isolement :

L'isolement a été réalisé par ensemencement de la culture d'enrichissement dans deux milieux sélectifs qui ont été choisis (ensemencement par épuisement). Par la suite on incube pendant 24 à 48 heures à 37°C.

- **Gélose Hektoen** : pour la recherche des entérobactéries.
- **Mannitol Salt agar** : pour la recherche des staphylocoques.

A ce stade, la lecture de l'isolement direct est terminée, nous pouvons conclure sur la qualité du prélèvement (tableau 3) :

- ❖ Tout isolement de plus de 2 types de colonies doit être considéré comme contaminé.
- ❖ Nous qualifions les prélèvements avec deux types de colonies comme étant des infections bi-microbiennes.
- ❖ Lorsqu'il n'y avait pas de culture à l'isolement, nous ne considérons que le prélèvement soit stérile ou l'origine de la mammite n'est pas bactérienne.

Tableau 03: évaluation de la qualité du prélèvement (COFRAC/CVEVA, 1996).

Nombre de types de colonies isolées	Conclusion
0	Prélèvement stérile
1	Prélèvement (mono microbien)
2	Prélèvement (bi microbien)
Plus de 2	Contamination du prélèvement

2-3-2-c- Purification et conservation des souches isolées :

Cette étape s'est effectuée par le ré-ensemencement de chaque colonie suspecte sur les mêmes milieux sélectifs.

Les souches ainsi ré-isolées et purifiées sont repiquées dans des tubes de gélose nutritive inclinée, incubées à 37°C pendant 24h puis conservées à la température du réfrigérateur +4°C pour être ensuite le sujet d'un examen microscopique et une identification biochimique.

2-3-2-d- Aspect des colonies :

➤ **Sur la Mannitol Salt agar (gélose hyper salée au mannitol),**

Les colonies caractéristiques de staphylocoques sont d'une auréole jaune (figure 07).

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

- ❖ **Virage au jaune du milieu** : les colonies sont mannitol + car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu. (Pathogénicité)

- ❖ **Pas de virage** (le milieu reste rouge) : les colonies sont mannitol - car elles ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique (Non pathogène).

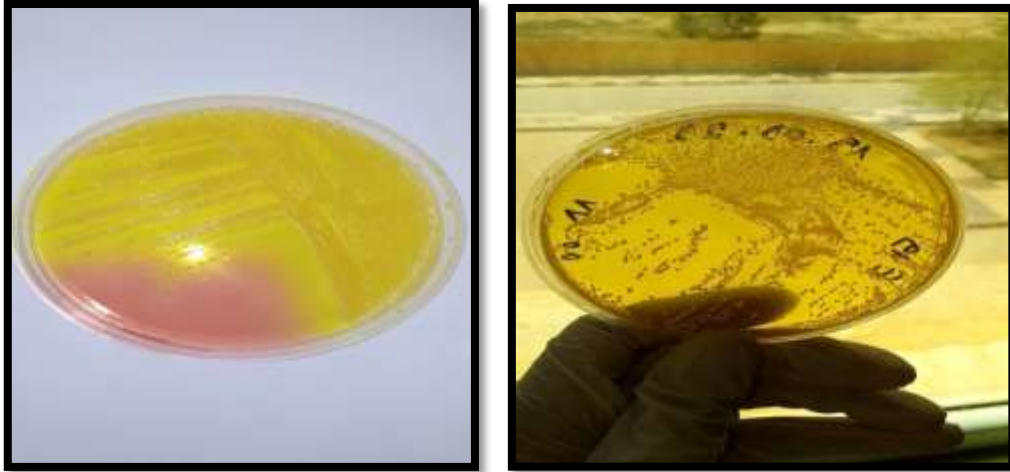


Figure 07: Prélèvements positifs sur milieu Mannitol salt agar (originale)

➤ **Sur la gélose de Hektoen**

Les colonies caractéristiques d'entérobactéries sont (figure 8) :

Colonies saumons : le pH est acide /les bactéries fermentent le lactose et/ou le saccharose, et/ou la salicine en produisant des acides /bactéries Lactose + et/ou Saccharose +, et/ou Salicine +.

➤ **Colonies transparentes** : vertes ou bleues : le pH est neutre ou basique /les bactéries ne fermentent ni le lactose, ni le saccharose ni la salicine /bactéries Lactose -, Saccharose - et Salicine-

Colonies à centre noir : formation d'un précipité de sulfure ferrique les bactéries produisent de l'H₂S : H₂S +.



Figure 8 : Prélèvement positif sur milieu de Hektoen (originale)

2-3-2-e- Identification :

L'identification du genre est effectuée par l'aspect de colonies sur gélose, la réalisation d'une coloration de Gram, ainsi que la recherche de catalase pour les bactéries à Gram + et de l'oxydase pour les bactéries à Gram -.

A partir des colonies isolées, purifiées et conservées sur GNI, la confirmation des bactéries suspectées comme pathogène a été effectuée selon les étapes suivantes :

A) Identification microscopique :

Cet examen se base sur coloration de GRAM qui a pour but de déterminer la morphologie et l'aspect pariétal des bactéries. Le protocole de la coloration est mentionné en annexe (3).

L'aspect des staphylocoques lors de la coloration de Gram est très caractéristique, ils paraissent sous forme des cocci à Gram positif, le plus souvent en amas dits en grappes de raisin. 00

L'aspect des staphylocoques lors de la coloration de Gram est représenté dans la figure (9).

Les entérobactéries paraissent sous forme de bacilles à Gram négatif.

L'aspect des entérobactéries lors de la coloration de Gram est représenté dans la figure (10).

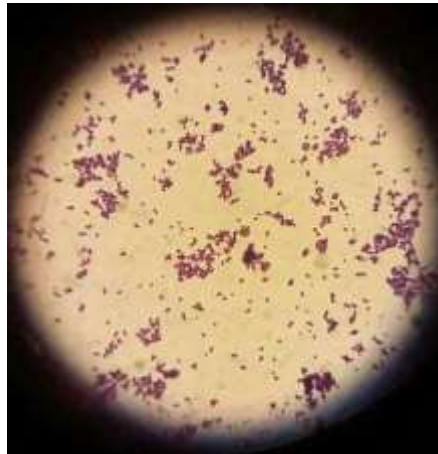


Figure 9 : L'aspect des staphylocoques après de la coloration de Gram.

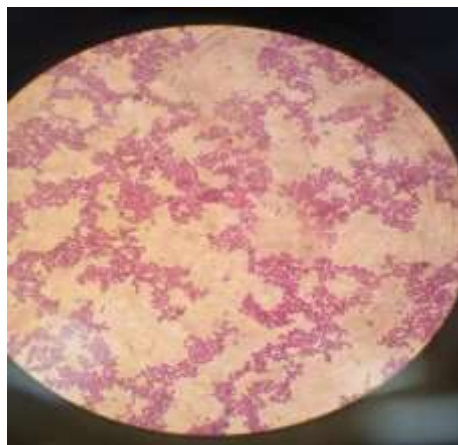


Figure 10 : L'aspect des entérobactéries à la coloration de Gram

B) Identification biochimique :

Vu la non indisponibilité des galeries miniaturisés (API 20) et Api staph®), qui font servi à l'identification successive des entérobactéries, et des staphylocoques, nous avons fait recours aux galeries biochimiques classiques.

Le principe, le mode opératoire et la lecture de chaque test sont détaillés en annexe 3

B-1) Identification des entérobactéries :**a-1) Recherche de l'oxydase (voir annexe 3).****b-2) Fermentation de glucose avec ou sans gaz, utilisation du lactose et du saccharose et production d'H₂S : Test TSI**

Ce test a été effectué dans le milieu TSI, Incubé 24 heures à 37°C (voir annexe 3).

c-3) Mise en évidence de la production d'indole, présence de l'uréase :

Ces deux caractères biochimiques ont été étudiés dans le milieu urée-indole, incubés pendant 24 h à 37°C (Voir annexe 3).

d-4) Test de l'utilisation du citrate Simmons (CIT) :

Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone dans le milieu de culture, incubé 24 h à 37°C.

e-5) Test lysine décarboxylase (LDC), ODC (ornithine décarboxylase) et ADH (arginine dihydrolase)

Ces enzymes, dont l'action est favorisée en milieu acide et en conditions d'anaérobiose, forment des substances alcalines à partir des acides aminés avec libération de CO₂. Ces enzymes sont recherchées dans le milieu Möeller, incubé à 37°C pendant 96h.

B-2) Identification des Staphylocoques :

L'identification des staphylocoques est effectuée d'abord grâce à l'aspect des colonies sur le mannitol salt agar, par une coloration de Gram et par le test de catalase.

La recherche de la coagulase liée et de la coagulase libre permet de distinguer les staphylocoques produisant une coagulase (staphylocoques à coagulase positive) et ceux n'en produisant pas (staphylocoques à coagulase négative).

Les staphylocoques à coagulase positive ont été identifiés *Staphylococcus aureus*.

L'identification des staphylocoques à coagulase négative est réalisée par recherche des caractères culturels complémentaires, par micro-méthode, grâce à la galerie Api Staph.

Mais vu que l'absence des réactifs (plasma du lapin) pour réaliser le test de coagulase, ainsi que l'indisponibilité des galeries Api Staph, nous avons adopté un autre plan pour distinguer les staphylocoques pathogènes et non pathogènes, on se basant sur la fermentation de mannitol. En effet, la croissance des colonies sur le mannitol salt agar, qualifie la bactérie

comme un *Staphylococcus* (halophile), (caractère sélectif de milieu). D'autre part si la colonie est de coloration jaune, à la suite de virage de l'indicateur de pH : Rouge de phénol (orange vers le jaune), traduisant une fermentation de mannitol (caractère différentielle de milieu). Les souches qui fermentent le mannitol sont considérées pathogènes (*Staphylococcus aureus*).

En revanche, si la colonie est de coloration rouge ou orange, l'indicateur de pH : Rouge de phénol n'est pas virer, traduisant la non fermentation de mannitol. Les souches qui ne fermentent pas le mannitol sont considérées comme des *Staphylococcus* non pathogènes.

3-4- Analyse statistique :

Le traitement des données et les représentations graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2013. L'analyse statistique a été réalisée à partir des valeurs obtenues par l'application des tests (chi², intervalle de confiance) pour la comparaison entre les différents paramètres étudiés

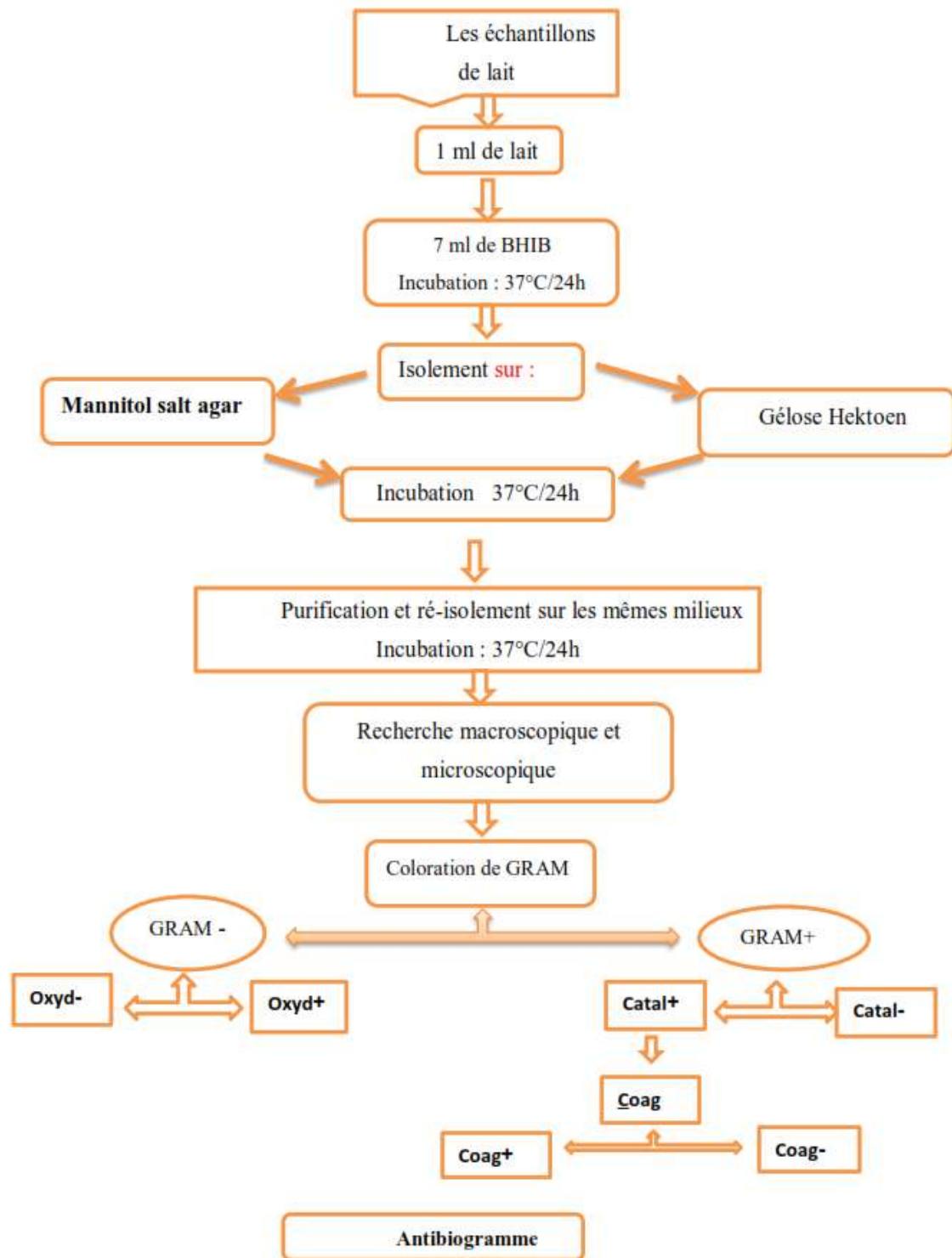


Schéma 11 : Représentation schématique de la méthode d'isolement et d'identification bactérienne.



RESULTATS

ET DISCUSSION:

1-Résultats de l'enquête :

L'analyse des informations récoltés à partir des fiches établies pour chaque vache a permis de montrer pour chaque échantillon investigué les critères suivants : l'âge, mois du prélèvement (saison) et le stade de lactation. Ces données relatives qui ont été recueillies lors de nos visites sont résumées dans le tableau 4. Les résultats de notre enquête montrent que la plupart des élevages ont été en stabulations entravée.

L'état de propreté des élevages dans tous les cas était presque toujours médiocre. La nature de sol dans la majorité des cas était humide et mouillé.

2-Aspect global sur la population d'étude :

Trente vaches malades et caractérisées par la présence des différents signes inflammatoires. Ces animaux ont été visités par des vétérinaires collaborateurs pour des soins, toutes ces vaches appartiennent à des élevages différents situés dans les communes suivantes (Al-Bireen, Massad, Ain Al-Chih, et Mejbara, et Ain oussara.) (Wilaya de Djelfa).

Notre étude s'est étalée sur six mois de Novembre 2022 à Avril 2023. Les informations relatives à la répartition des prélèvements du lait des vaches présentant une mammite clinique en fonction du mois d'étude sont rapportées dans la figure (12).

Le plus grand nombre des prélèvements a été effectué durant le mois de Janvier

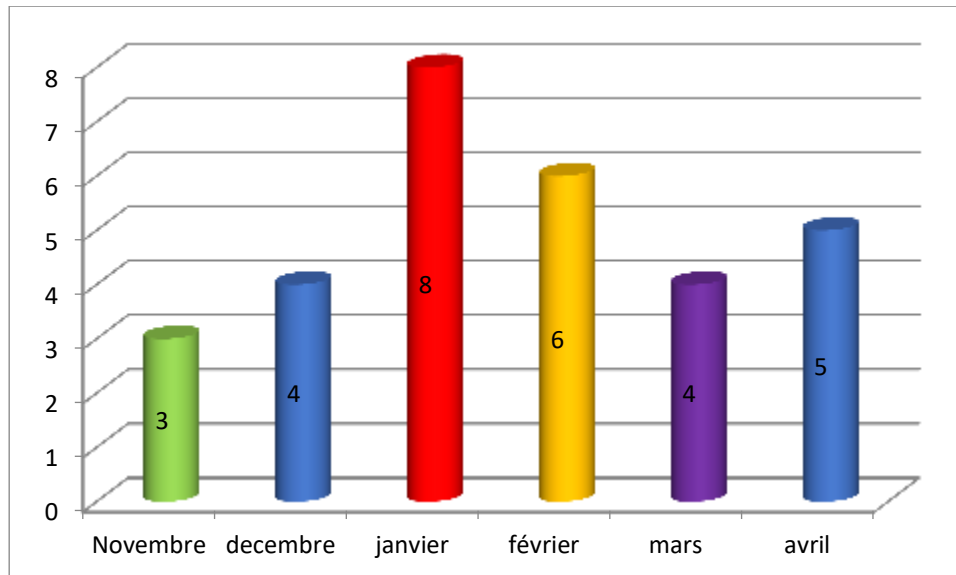


Figure 12 : Répartition des prélèvements du lait mammitique en fonction du Mois du Prélèvement.

Tableau 04 : Caractéristiques des troupeaux visités.

Élevage	Effectif	Nm des cas/ élevage	Age des vaches	Mois du prélèvement	Moment d'apparition de la mammité après la mise bas
E1	15	2	2,5 ans- 5 ans	3-11	3 m- 10 s
E2	24	3	3,5 ans- 5 ans 4ans	4 -12-12	4s- 3s- 2s
E3	16	4	2 an- 3ans 3,5 ans - 4ans	1-1-4-3	9s- 1s- 3s- 4s
E4	20	3	2 ans- 3 ans- 5 ans	11- 1 - 3	6s- 3s- 1s
E5	20	2	2 ans- 3,5 ans	3-12	3,5m - 1s
E6	20	2	3ans- 3ans	11-4-	3s - 4s
E7	25	2	3 ans - 3ans	-2-1-1	1s- 3s
E8	20	2	2,5 ans- 3,5 ans	1-1	4 m- 3s
E9	25	1	2 ans	12	1s
E10	10	1	4ans	2	2s
E11	20	3	3 ans- 4,5 ans 5ans	4-2-2	4,5 m- 5s- 3s
E12	11	1	2 ans	1	2s
E13	10	2	4ans -5 ans	2	1s - 3s
E14	14	2	4ans- 2.5 ans	2	4s - 2s

Les mois sont désignés par des chiffres (Novembre- Décembre- Janvier- février- Mars- Avril - pour (11-12-1-2-3-4) (m= mois, s= semaine, x= fois)

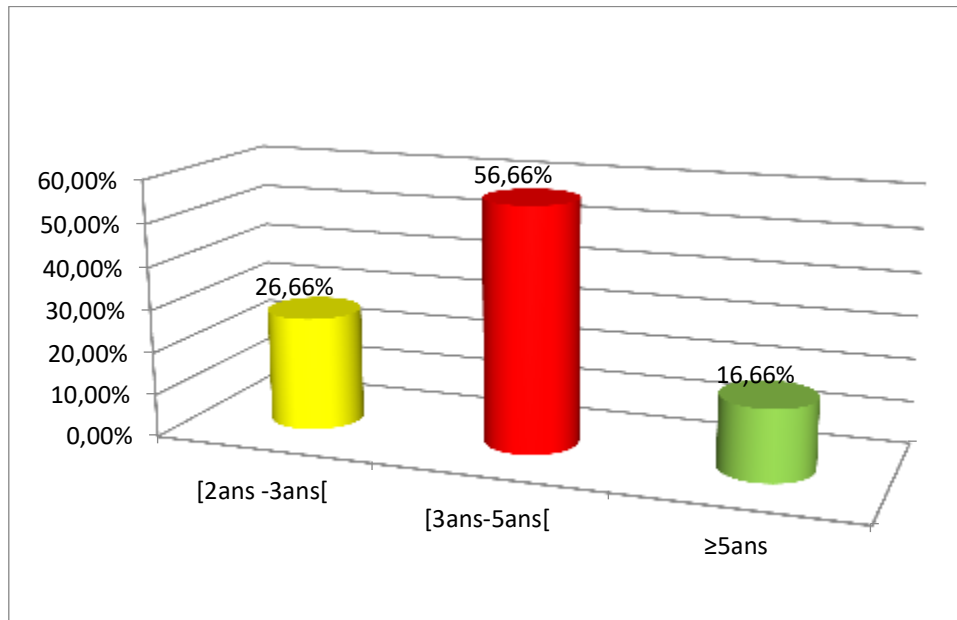
2.1. Variation de l'incidence des mammites cliniques en fonction du rang de lactation (l'effet de l'Age)

Au cours de la présente étude, la fréquence la plus élevée est observé chez les vaches âgées entre 3 et 4 ans.

Le tableau (05) et la figure(13) montrent la prévalence des mammites cliniques constatées en fonction de l'âge des vaches.

Tableau 05 : Répartition des cas de mammites cliniques selon le rang de lactation.

nombre	Age (ans)	Fréquence	P
8	[2-3[26.66 %	P<0,005
17	[3-5[56.66%	
5	≥5	16.66%	

**Fig13: répartitions des mammites cliniques des vaches en fonction de l'âge (originale).**

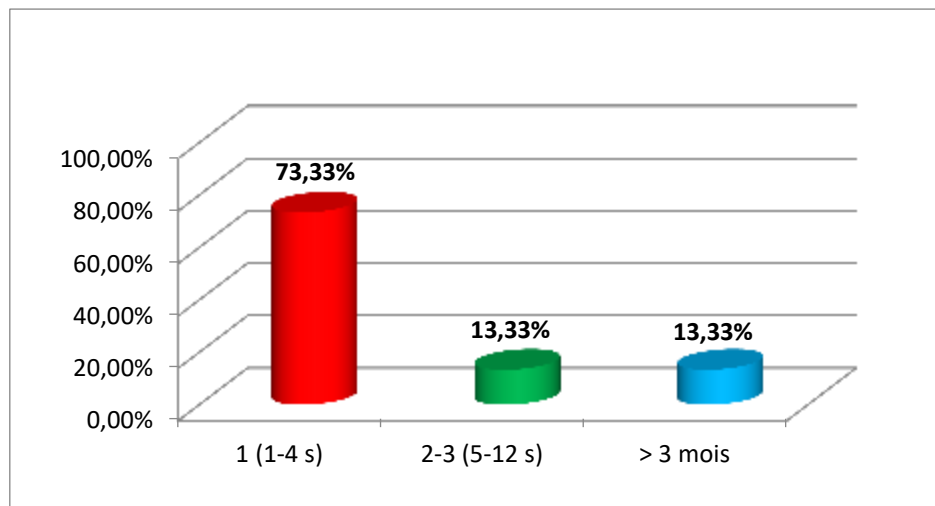
La différence entre les différents taux des mammites cliniques rapportés en fonction de l'âge des vaches est statistiquement très significative ($p \ll 0,05$). Donc la répartition est hétérogène. Ce qui signifie que l'âge de la vache constitue un facteur de risque très important dans l'épidémiologie des mammites cliniques.

2.2-Effet du mois (moments) de lactation sur les mammites cliniques :

Le tableau (7) et la figure (13) indiquent la prévalence des mammites cliniques constatée en fonction du mois (moments) de lactation des vaches ou le moment d'apparition de la mammite.

Tableau 6 : Répartition des mammites clinique en fonction de mois de lactation.

Mois de lactation	Nombre	Fréquence	P
1 (1-4 semaine)	22	73,33%	P < 0.05
2-3 (5-12 semaine)	4	13.33%	
> 3 mois	4	13,33%	

**Figure 14 : Répartition des mammites clinique des en fonction de mois de lactation**

Après la stratification des prévalences en fonction du moment d'apparition de la mammite par rapport la date du part, nous avons constaté plusieurs variations, c'est bien que la prévalence la plus élevée est marquée entre la première jusqu'à la quatrième semaine de lactation, avec un taux globale de (73,33%).

La différence entre les fréquences des mammites cliniques et le stade de lactation est statistiquement significative ($p < 0,05$). Ce qui illustre que le stade de lactation est un paramètre important à prendre en considération dans la lutte contre les mammites.

3. Analyse bactériologique :

3.1 Résultat globaux et qualité d'échantillonnage:

Selon la présence ou l'absence des germes recherchés, une qualité des différents échantillons a été établit. Ceci a abouti à l'ordre suivant (Tableau 8 et la Figure 14).

Sur les 30 prélèvements analysés :

- ❖ 29 échantillons (29/30: 96.66%) ont été positifs à la culture (dont 16 ont permis

l'isolement d'une seule espèce bactérienne (**16/30** : 53,33%) et 13 (**13/30** : 43,33%) de deux espèces bactériennes)

- ❖ Un seul échantillon 1 (**1/30** : 3.33%) a été considéré comme un échantillon stérile
- ❖ aucun prélèvement n'a été qualifié comme étant contaminé.

Tableau 7 : Nombre et fréquence des germes isolés par quartiers positif :

Culture	N de prélèvement	Fréquence
Stérile	1	3.33%
Correct mono microbien	16	53.33%
Correct Bi microbien	13	43.33%
Contaminé	0	0%
Total	30	100%

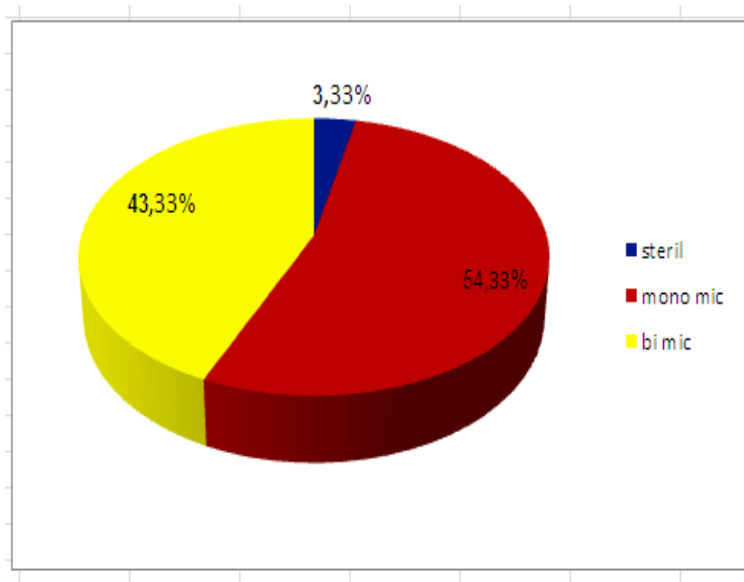


Figure 15 : Répartition des souches isolées par quartiers.

A partir de 29 échantillons du lait positifs à la culture (29 retenus = 30 totale – 1 échantillon stérile), nous avons obtenu 42 isolats (16 mono-microbien + (13x2) bi-microbien = 26), se répartissant comme suit : 28 souches à Gram positif (66,66%) et 14 souches à Gram négatif (33,33%) (Tableau 9 et la figure 15).

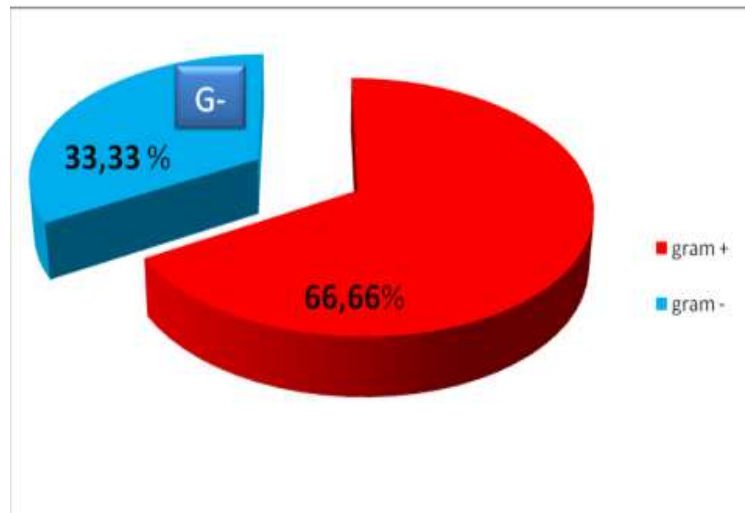


Figure 16: Répartition des germes isolés en fonction du Gram.

Tableau 8: Répartition des germes isolés en fonction du Gram

Souches	Gram	Pourcentage
28	positif	66.66%
14	négatif	33.33%

3.2. Nature et prévalence des germes:

Nos résultats montrent des pourcentages différents pour les principaux germes recherchés lors des cas cliniques des vaches dépistées.

La répartition des souches montre que les Staphylocoques mannitol positifs (présupposé coagulase positif) constituent l'espèce la plus isolée 54,77%, suivi par *E. coli* avec 21,42%, ensuite, les Staphylocoques mannitol négatif (présupposé coagulase négative) (SCN) avec 11,90%. Puis *Proteus vulgaris* 7,14 % et en fin *Klebsiella spp* avec le taux le plus bas 3,33 %. (Tableau 10 et la figure 16).

Remarque

Les staphylocoques mannitol positifs : sont considérés comme *Staphylococcus aureus*
 Les staphylocoques mannitol négatif : sont considérés comme *Staphylococcus coagulase négative* (SCN).

Tableau 09 : fréquence d'isolement des différentes espèces bactériennes.

Famille	espèces	nombre	Fréquence %
<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus mannitol +</i>	23/42	54.77%
	<i>Staphylococcus mannitol -</i>	5/42	11.90%
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	9/42	21.42%
	<i>Proteus vulgaris</i>	3/42	7.14%
	<i>Klebsiella spp</i>	2/42	4.77%
Totale :		42	100%

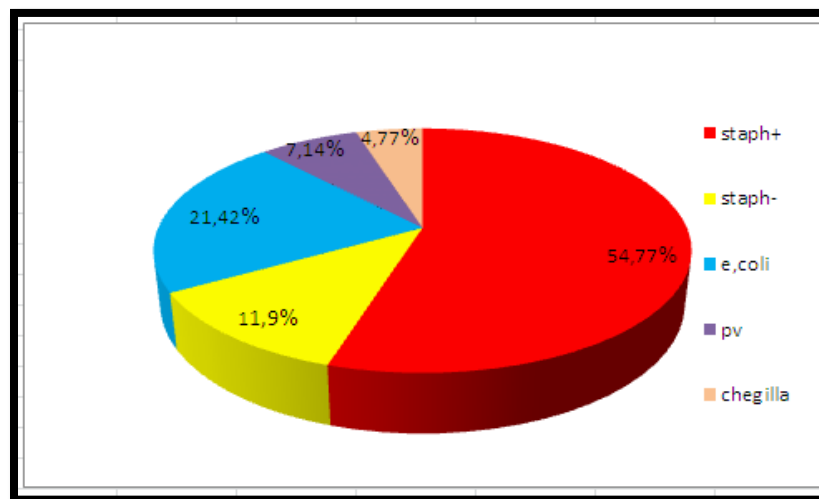


Figure 17: fréquence d'isolement des différentes espèces bactériennes

3.3. Présence simultanée de 2 espèces bactériennes dans un même prélèvement du lait :

Le tableau (11) regroupe les associations bi-microbiennes causant une mammite clinique constaté au cours de notre étude. En effet, nous avons enregistré 12 prélèvements du lait contiennent deux souches bactériennes différentes.

Tableau 10 : les associations de 2 espèces bactériennes.

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris.</i>	<i>Klebsiella spp</i>
<i>Staphylococcus</i> mannitol +	8	2	2
<i>Staphylococcus</i> mannitol -	0	1	0

1-choix de sujet et méthodologie de travail:

La vache est considérée comme une forte productrice dans nos pays essentiellement pour la production de viande, et surtout du lait. Chez cette espèce, les mammites constituent une pathologie très courante.

Les mammites constituent l'un des fléaux majeurs de l'élevage laitier, et se trouvent toujours parmi le ****top3**** des maladies les plus coûteuses des entreprises laitières en Algérie. En effet, malgré la fréquence des mammites cliniques dans les élevages bovins laitiers dans les élevages algériens (**Niar et al., 2000 ; Bouaziz et al., 2000**), il faut signaler le manque d'études approfondies, indispensables pour cerner les facteurs de risque associés à ces infections mammaires ainsi que la connaissance des bactéries responsables.

Pour ces mêmes raisons, ainsi que l'insuffisance des travaux publiés sur les mammites aussi bien des petits ruminants que des bovins dans la région de Djelfa et le sous diagnostic des agents causals, nous poussent à essayer de mettre l'accent sur cette pathologie pour contribuer à mettre en route un plan de surveillance contre les différents germes en cause.

La connaissance précise de la fréquence des germes responsables de mammites chez la vache est indispensable pour la définition et l'adaptation des programmes de maîtrise des mammites aux différentes situations épidémiologiques.

Pour cela, au cours de présente étude nous avons tenté d'établir deux approches, une approche du terrain à travers une enquête sous forme d'un questionnaire et une approche du laboratoire à l'aide d'un diagnostic bactériologique chez des vaches atteintes de mammites cliniques. Cette expérience s'est effectuée dans des cheptels bovins dans quelque troupeau de la wilaya de Djelfa (Al-Bireen, Massad, Ain Al-Chih, et Mejbara, et Ain oussara).

2. Informations générales sur le cheptel expérimenté :

Notre travail a porté sur un totale de 30 vaches présentent des mammites cliniques caractérisées par la présence des signe inflammatoire, qui indique une atteinte aigu de la glande mammaire.

2.1. Enregistrement des cas clinique :

Selon l'enquête réalisée, nous avons observé une fréquence importante de la mammite clinique allant jusqu'à 12 %. En comparant nos résultats avec d'autres résultats rapportés en Algérie, nous trouvons que nos résultats étaient cohérents avec ceux enregistrés par TAIBI et Lehouibi (2017) ainsi que Frihi et Hadjadj (2019) qui ont constaté une fréquence de 11.66 % et 13,89% respectivement. De même, Bouzid (2011) a constaté une fréquence de 14% dans

la région de El'Tarf (Nord-Est Algérien).En revanche, nos résultats sont nettement inférieure à ceux rapportés par **(NIAR et al., 2000)** qui ont constaté une prévalence de 42,2 % dans la région de Tiaret et ceux constatés par **(Koutchoukali, 1980)** dans la région de Constantine avec une prévalence de 23,1%.

D'autre part, des taux de mammite clinique plus élevés par rapport au nôtre ont été notés dans d'autre pays étranger ; 29% **(Seegers et al., 1997)** en France et 30% **(Rahmouni-ALAMI et Mazouz, 2003)** au Maroc.

Ces différences entre études peuvent être liées au niveau de production laitière, à la race des vaches, aux modalités de traitement des mammites ou au pourcentage des vaches primipares **(Barniun et al., 1999)**.

Le pourcentage élevé de la mammite clinique pourrait être due aux mauvaises conditions d'élevage avec un manque d'hygiène.

2.2. Répartition des mammites cliniques en fonction du stade de lactation :

Les vaches laitières montrent une claire sensibilité à l'infection mammaire en début de lactation **(Poutrel, 1983)**. La lecture de la répartition des mammites cliniques en fonction du mois de lactation, illustre que la moitié des vaches examinées souffrent des mammites cliniques au cours du premier mois de lactation (1 à 4 semaines post partum) ; 73.33 %, un taux relativement est en accord avec les fréquences obtenues par **Taibi et Lehouibi (2017)** et **Hadjadj et Frihi (2019)** qui ont constaté des prévalences de 63.33 % et 66.66 % dans les régions de Boussaâda et Djelfa respectivement.

En comparant nos résultats avec d'autres résultats rapportés en Algérie, nous trouvons que nos résultats étaient supérieurs à ceux rapportés par **Zikem et segheir (2021)** qui ont rapporté un taux de 50%.

D'autre part, **(Bouaziz, 2005)** a montré que 41% des mammites clinique surviennent dans les deux premiers mois de lactation, ce qui est nettement inférieure au nôtre taux.

Les résultats de **(Oliver et al., 1956)** indiquent que globalement la fréquence des nouvelles infections et des mammites diminue en fonction du stade de lactation et que c'est entre le 1^{er} et le 2^{eme} mois de lactation que cette diminution , est la plus importante.

Dans une expérience conduite dans trois troupeaux, nous avons observé **(Rainard et Poutrel, 1982)** à partir d'analyses bactériologiques réalisées toutes les trois semaines sur l'ensemble des quartiers que 50 % des infections s'établissent dans les trois premiers mois de lactation.

Les raisons d'une sensibilité plus grande des animaux au début de lactation restent ignorées. Il a été suggéré que les modifications physiologiques importantes, en particulier

hormonales, qui prennent place « post partum » peuvent réduire la résistance au niveau de la mamelle (Astrôm, 1972).

Nous savons que la fonction immunitaire est altérée et que la glande mammaire est plus sensible autour du part (Jasper et al., 1975). Dans les premiers jours suivant le vêlage il y a diminution de la concentration en cellules polynucléaires neutrophiles circulantes (Newbould, 1976) et diminution de l'afflux de neutrophiles et de lymphocytes dans la mamelle (Jasper et al., 1975). Les mécanismes de défenses humoraux, comme l'augmentation de la lactoferrine ou des immunoglobulines, sont également altérés en post partum (Nikerson, 1993).

Ces données sont en accord avec les travaux de Kingwill et al. (1977) qui ont montré la présence de deux périodes à risque : le début de lactation et le début de la période sèche. Ces données soulignent l'importance d'un dépistage et d'une prévention accrues des mammites cliniques durant la première partie de la lactation. Lors du post-partum, les mammites peuvent être dues : soit à des infections anciennes par des bactéries présentes au tarissement, soit à des nouvelles infections par des bactéries issues de la litière, ou infectantes la mamelle lors des premières traites.

2.3. Répartition des mammites cliniques en fonction du rang de lactation :

D'une manière générale, les vaches âgées sont plus exposées aux mammites cliniques.

Au cours de notre étude, la fréquence des mammites cliniques est importante surtout chez les vaches âgées entre 3 et 5 ans (56.66%), ce qui est en désaccord avec les constatations de Taibi et Lehouibi (2017), Hadjadj et Frihi, (2019) ainsi que Zikem et segheir (2021) qui ont tous constaté que la fréquence des mammites cliniques est importante surtout chez les vaches en 5^{ème} lactation. De nombreux auteurs rapportent que le taux de mammites augmente avec le nombre de lactations (WILESMITH et al., 1985, SARGEANT et al., 1998). Paradoxalement nous avons trouvé que le taux des mammites cliniques chez les vaches âgées plus de 5 ans est de 16.66 seulement.

En effet, plusieurs facteurs pourraient expliquer, la prédisposition des vaches âgées aux infections mammaire, entre autres, on peut citer, allongement des trayons et, plus précisément, diminution de la distance par rapport au sol, lésions sur le trayon, perte d'élasticité du sphincter et augmentation de sa perméabilité ce qui favorise la contamination (Poutrel, 1983).

3-Analyse bactériologique

3.1.-Qualité d'échantillonnages

3.1.1.-Prélèvements corrects (mono et bi-microbien) :

La majorité des mammites ont une origine mono microbienne. Cependant l'existence d'associations de deux espèces bactériennes lors de mammites cliniques a été démontrée (**BIND et al., 1980**). Par contre la présence de trois espèces différentes ou plus révèle une contamination initiale de l'échantillon.

Au cours de la présente étude, 53,33% des prélèvements de lait issus de mammites cliniques contenaient une seule espèce bactérienne. Ce résultat est superposable aux données rapportées par **Taibi et Lehouibi (2017)**. De même, nos résultats étaient cohérents avec ceux enregistrés par **Ramisse et al., (1982)** (58,6%) et **Fabre et al., (1991)** 59,7%.

D'autre part, notre taux est plus faible par rapport aux autres taux annoncés par d'autres auteurs en Algérie; 71,42% par **Korikar et Rabbahi (2018)** et (77,8%) par **Zikem et Segheir (2021)**. En revanche, **Hadjadj et Frihi, (2019)** dans la région de Djelfa, n'ont isolé qu'une seule espèce dans 36,66 % des prélèvements du lait issus de mammites cliniques, ce qui est relativement faible vu que le caractère mono microbien des mammites clinique.

L'association de 2 espèces bactériennes dans 43,33 % des prélèvements est un résultat proche à celui de **Hadjadj et Frihi, (2019)** qui rapporté un taux des mammites clinique bi-microbien de 56,7%. En effet, notre taux nettement supérieur à ceux rapportés en Algérie par **Korikar et Rabbahi(2018)** 11,42% et par **Taibi et Lehouibi (2017)** 23,33%.

En plus, ce qui montre le taux anormalement élevé des co-infection enregistré au cours de notre étude, c'est les taux nettement faibles rapportés par plusieurs auteurs en Algérie et dans de nombreux pays; 7,1% (**BOUAZIZ, 2005**) en Algérie, 1,3% (**FABRE et al., 1997**) en France.

La différence de nos résultats par rapport aux autres études est expliquée par la différence dans la technicité de laboratoire (personne, matérielles) et la méthodologie utilisée pour l'isolement bactérien.

3.1.2. Prélèvements stérile (culture négative) :

Sur les 30 prélèvements du lait issus des vaches atteintes de mammites cliniques, un seul prélèvement soit 3,33% des cas, où nous n'avons pas pu isoler de bactérie responsable de mammite, ce qui représente un pourcentage relativement faible et compatible avec les fréquences rapportées dans d'autres études comme celle de **Hadjadj et Frihi, (2019)** en

Algérie ainsi que **Belliard, (2009)** en France qui ont mentionné respectivement des pourcentage de 6.66% et 7,8% de prélèvements stérile.

En comparant nos résultats avec d'autres résultats rapportés en Algérie, nous trouvons que nos résultats étaient nettement inférieur à ceux rapportés par (**Koutchoukali, 1980; Bouaziz, 2005 ; Taibi et Lehouibi, 2017**) qui ont constaté un taux de stérilité de 48,5, 20,6% et 16.6% successivement.

En plus, la proportion des prélèvements bactériologiquement négatifs trouvée au cours de notre étude est très faible par rapport à celles constatées par; (**FABRE et al., 1997**) en France (31,4%), (**Shyaka, 2007**) en Sénégal (31,82%) et (**Giannechini et al., (2002)** en Uruguay (32.5).

L'absence de culture bactérienne peut être expliquée de plusieurs manières :

- ❖ Tout d'abord, l'inflammation est d'origine non infectieuse (traumatique) (le prélèvement est vraiment stérile)
- ❖ Le prélèvement ressort stérile bien que l'étiologie soit infectieuse :
 - ✓ la première éventualité est la présence d'antibiotiques dans le lait qui empêchent les germes de cultiver.
 - ✓ Nous pouvons aussi envisager le cas d'une mammite infectieuse pour laquelle le lait est réellement stérile au moment du prélèvement car le germe a été éliminé naturellement, mais ces germes produisent des endotoxines responsables des symptômes qui ne sont libérées qu'après la lyse des corps bactériens. Ainsi au moment d'expression clinique de la mammite, la plupart des germes responsables sont déjà détruits (**Eberhart et al., 1979**).
 - ✓ Des résidus d'antibiotiques peuvent être présents dans le lait suite à un traitement, ce qui empêche les germe à cultiver. Dans leur étude **Ramisse et al., (1982)** ont montré que 15% des prélèvements de lait de mammite contenaient des anti-infectieux. **Hanzen en 2008** a monté que l'utilisation des antibiotiques pour le traitement de mammite où elles empêchent les germes de cultiver et modifiant considérablement le tableau bactériologique. Mais dans notre étude la totalité des prélèvements à ont été réalisée avant de mettre en place le traitement antibiotique.
 - ✓ les cultures stériles peuvent être dues à des problèmes de conservation au froid de certaines espèces dont les colibacilles. En réalité, le froid peut détruire un certain nombre de bactéries lors de la conservation des prélèvements. **Storper et al., (1982)** ont montré que la congélation à - 18° C pendant 4 semaines réduisait le nombre d'échantillons cultivant de 5 à 20 %. Par contre elle semble sans effet sur les streptocoques et *Staphylococcus aureus* (**Schukken et al., 1989**).

✓ Enkystement du germe, cas de *S. aureus* ainsi que la localisation intracellulaire de certaines bactéries ou la quantité de lait prélevé est insuffisant.

✓ Lorsque nous ne retrouvons pas l'agent pathogène, cela peut être dû au fait que les techniques de bactériologie classiques sont insuffisantes pour isoler certains germes, en effet, le milieu de culture peut être inapproprié pour certaines espèces bactériennes aux exigences de culture particulières. Dans notre étude le milieu d'isolement utilisé ne permet pas la mise en évidence des mycoplasmes (**Dinsmore et al., 1992**).

✓ En fin, Autre éventualité c'est que l'origine de la mammité bien que infectieuse, mais elle est virale ou fongique.

3.1.3. Prélèvements contaminés (plus de deux espèces bactériennes) :

Les prélèvements ont été réalisés par les vétérinaires et très rarement par les éleveurs eux-mêmes. La technique de prélèvement peut donc varier d'un cas à l'autre, en particulier en matière de précautions aseptiques.

Au cours de la présente étude, aucun prélèvement ne se révèle contaminé, ce qui signe la très bonne maîtrise du geste du prélèvement. Notre taux (0%,) est superposable avec celui annoncé par **Hadjadj et Frihi, (2019)**. En revanche, notre taux est nettement inférieur à celui annoncé par **Zikem et Segheir (2021)** dans la région de Djelfa qui ont constaté un taux de contamination de 10%.

De plus, **Rakotozandrainy et Foucras (2007)** en Madagascar qui ont constaté un taux relativement important de 16%.

Le faible pourcentage de prélèvements contaminés signe une bonne maîtrise du geste du prélèvement bien que la personne effectuant les prélèvements n'ait pas été toujours la même, ainsi qu'une bonne préparation de la mamelle.

Il est très difficile d'éviter les contaminations dans les élevages où les mesures d'hygiène sont mal appliquées et où les conditions de prélèvement sont difficiles (éclairage insuffisant, mouvements d'animaux, poussières dans l'air) (**Neave, 1975**).

3.2. Importance des différentes espèces bactériennes :

La comparaison de nos résultats à ceux d'autres études, nous a permis d'approcher l'étiologie des mammites cliniques. En effet, les germes pathogènes majeurs ont été le plus fréquemment isolés dans notre étude puisqu'ils représentaient 76.2 % (32/42) de l'ensemble des germes isolés. Les germes mineurs ont été isolés dans 23.8% (10/42).

Les espèces bactériennes les plus souvent rencontrées dans notre étude sont : *S. aureus* (54,7%), *E. coli* (21,4%) et staphylocoques coagulase négative (11.9%).

Shyaka (2007) en Sénégal a surtout isolé les Bacilles Gram négatif non entérobactéries avec une fréquence de 33,35% et cela contrairement à la majorité des études réalisées sur les mammites cliniques des bovins, où les principaux germes demeurent *S.aureus*, *Streptococcus uberis*, *dysgalactiae* et *agalactiae*.

En plus, ce qui confirme l'hétérogénéité des résultats entre les différentes études, c'est les résultats de **Sargeant et al., (1998)**, qui ont constaté que les staphylocoques à coagulase négative sont les germes majeurs dans les mammites cliniques avec une prévalence de 28,7%, suivi par les coliformes (17.2%), par contre les *S. aureus* surviennent dans un rang tardif avec une fréquence de 6,7%). Cette hétérogénéité est encore une fois confirmée par les résultats de **(Saïdani et al.,2006)**, qui ont constaté que les *E.coli* sont les germes majeurs dans les mammites cliniques avec une prévalence de 39,4%, suivi par les *Streptococcus* spp (19%), par contre les *Staphylococcus* spp surviennent en 3^{ème} place par une fréquence de 17%).

3.2.1. *Staphylococcus mannitol positifs (Staphylococcus aureus)* :

Staphylococcus aureus induit des mammites avec une atteinte marquée de l'état général. En réalité, en présence d'une mammite gangreneuse, il faut toujours rechercher la présence de *S. aureus* car c'est une forme de mammite typique de cette bactérie **(Gyles et al., 2010)**.

L'importance de *S. aureus* dans les mammites cliniques bovine est variable d'une étude à l'autre. Nous pouvons néanmoins observer que dans la plus part des études, *Staphylococcus aureus* fait partie des principales espèces bactériennes incriminées dans les mammites cliniques et sa fréquence varie de 7 à 40% **(Fox et Gray, 1993)**.

Au cours de la présente, étude, *Staphylococcus aureus* est l'espèce bactérienne dominante lors de mammites cliniques avec une fréquence élevée de 54,7%, ce qui confirme sa place dominante parmi les germes pathogènes majeurs. Ce taux est identique à celui obtenu par **Korikar et Rabbahi (2018)** dans la région de Djelfa, qui ont constaté un taux d'isolement de *Staphylococcus aureus* de 54.54%.

D'autre part, **Benhamed (2014)** dans la région d'Oran (Ouest de l'Algérie) a isolé les *S. aureus* avec un pourcentage de (59,58%). De même, **(Hamiroune et al., 2017)** ont montré que les staphylocoques à coagulase positive étaient présents dans 59,7 % de 72 prélèvements de laits de pis.

Nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés en Algérie par **Hadjadj et Frihi, (2019)** ainsi que **Bouaziz (2005)** qui constaté des taux d'isolement de 37.77% et 30,4% respectivement.

En plus, nos résultats sont supérieurs aux proportions de 6,67%, 6,7%, 26 %, 28%, 31,5% et 45% rapportés respectivement en Sénégal par **(Shyaka, 2007)**, en Canada par

(**Sargeant et al., 1998**), en France par (**Martel, 1991**), en Tunisie par (Messadi et al., 1990), en Egypte par (**Seleim et al., 2002**) et en France par (**Flache, 2002**).

Les infections à *Staphylococcus aureus* sont principalement rencontrées dans les troupeaux où les mesures d'hygiène sont peu appliquées (**Bartlett et Miller, 1993**).

3.2.2. *Escherichia coli* :

Au cours de la présente étude, *E. coli* vient en deuxième place parmi les germes isolés dans le lait issus de mammites, avec un taux d'isolement de 21,4 %. L'importance de ce germe est confirmée par les autres études où elle est à l'origine de 13 à 35% des mammites cliniques (**Bouaziz, 2005**).

En comparant nos résultats avec ceux enregistrés dans les autres études menées en Algérie, nous trouvons que nos résultats sont en accord avec ceux de par **Hadjadj et Frihi, (2019)**, **Taibi et Lehouibi, (2017)** et **Zikem et Segheir (2021)**, qui ont constaté respectivement des prévalences de 20 %, 21,6 % et 22.2% Néanmoins, **Korikar et Rabbahi, (2018)** ont enregistré un taux supérieur au nôtre 27,27%.

Des taux relativement cohérent à notre taux ont toutefois constaté par **Fallet (1999)** et **Noireterre, (2006)** : 23,7% et % 23%

Nos résultats sont nettement supérieurs à ceux rapportés dans de nombreux pays, en Egypte 12,7% (**Seleim et al., 2002**), en France 6,8% (**Flache, 2002**) et en Uruguay 12.5% (**Giannechini et al., 2002**).

En revanche, des taux supérieurs aux nôtres ont toutefois étaient constatés dans de nombreux pays, tels que la France 31.2% (**Martel, 1991**), et la Tunisie 39,4% (**Saidani et al., 2016**).

Bradley et Green (2000), dans une récente étude rapportent que les coliformes sont responsables de 50% des mammites durant les 100 premiers jours de la lactation. De plus, **Anderson (1990)**, a montré que les coliformes sont retrouvés dans 20 à 80% des mammites cliniques aiguës aux Etats Unis.

3.2.3. Les *Staphylocoques mannitol (coagulase) négatifs* :

En troisième position, nous trouvons les Staphylocoques à coagulase négative avec 11,9% des isolements bactériens, germes incriminés dans les mammites cliniques mais représentant les espèces les plus fréquentes dans les mammites sub-cliniques (**Bergonier et al., 1997**).

En comparant nos résultats avec ceux enregistrés dans les autres études menées en Algérie, nous trouvons que nos résultats sont en accord avec ceux de par, **Taibi et Lehouibi,**

(2017) (10%) ainsi que **Korikar et Rabbahi, (2018)** (12,12%). **Zikem et Segheir (2021)**, qui ont constaté respectivement des prévalences de 20 %, 21,6 % et 22.2% Néanmoins, Zikem et **Segheir (2021)** ainsi que **Hadjadj et Frihi** ont enregistré des taux supérieur au nôtre 16.7,% et 24,44% respectivement.

Des taux inférieurs aux nôtres ont toutefois été constatés dans de nombreux pays industrialisés ; 6,6% par (**Miltenburg et al.,1996**) et 7,3% par (**Fabre et al.,1991**). Cependant, des taux supérieurs aux nôtres ont toutefois été constatés dans de nombreuses études ; comme celle de **Noireterre (2006)** en France et celle de **Arfaoui (2000)** en Tunisie qui ont constaté des taux de 21% et 21,4% respectivement.

Aucune souche de staphylocoques coagulase négative n'a été isolée par **Benhamed (2014)** dans la région d'Oran, à partir de 41 prélèvements de lait de mammite clinique.

En revanche, des études récentes montrent l'importance grandissante de ces bactéries où elles sont responsables des mammites cliniques avec des fréquences élevées, elles forment le groupe fréquemment isolé dans l'enquête de (**Sargeant et al., 1998**) avec une fréquence de 28,7%. Ce taux s'élève à 33,7% en Madagascar dans une étude menée par Rakotozandrindrainy et Foucras, 2007.

La même constatation a été annoncée en Algérie, par (**Hamiroun et al, 2017**) qui ont constaté un taux de 33.3%.

L'incidence de ces bactéries considérées comme des pathogènes mineurs n'est donc pas à négliger et elles sont de plus en plus incriminées dans les cas de mammite clinique.

S'ils sont le plus souvent associés à des processus sub-cliniques, les staphylocoques coagulase négative peuvent causer également un grand nombre de mammites cliniques. Il semble donc nécessaire de prendre en compte l'impact de ces bactéries. Leur contrôle est principalement basé sur le trempage des trayons après la traite et sur le traitement au tarissement (**Harmon et Langlois, 1989**).

A l'inverse, d'autres auteurs ont proposé le rôle protecteur des Staphylocoques coagulase négative, qui constituent la flore normale de la peau, et pourraient ainsi empêcher la colonisation de la glande par d'autres bactéries (**Rainard et al., 1987**). La production de bactériocines par les SCN pourrait participer au rôle protecteur (**Devliegher, 2005**).

Avec l'amélioration des méthodes d'identification, le nombre d'espèces et de sous-espèces de SCN caractérisées passe de 2 en 1974 (*epidermidis* et *saprophyticus*) à 11 en 1978, puis 16 en 1983 et 36 en 2005 dont 16 à 20 isolées d'infections mammaires (**Poutrel, 2005**).

La limite de notre étude sur les SCN c'est l'absence d'identification formelle des espèces de Staphylocoques, en raison du caractère prohibitif du prix d'achat des kits commerciaux (à titre indicatif une galerie d'identification API Staph ID32).

En raison de l'émergence des SCN dans les maladies humaines et animales, il sera important à l'avenir de mieux caractériser les espèces et sous espèces de SCN (**Rakotozandrindrainy et Foucras, 2007**).

3.2.4. Autres bactéries :

Les autres germes rencontrés à de faible fréquence sont : *Klebsiella* spp et *Proteus*, et signalés également dans la plupart des études déjà citées. Ils ont une faible importance dans l'étiologie des mammites cliniques.

L'incidence des mammites cliniques dépend donc des germes à réservoir mammaire (en particulier *Staphylococcus aureus*), mais aussi des germes d'environnement (*Escherichia coli*) et opportunistes (staphylocoque coagulase négative).

L'importance de *Staphylococcus aureus* comme agent de mammite clinique dans notre étude souligne les mauvaises conditions d'hygiène de la traite et l'absence de mesures de lutte (traitement au tarissement, trempage des trayons après la traite) contre les bactéries pathogènes à réservoir mammaire au niveau des élevages. Une attention particulière devrait être portée à l'égard de l'hygiène des mains des trayeurs.

L'importance des mammites à germes pathogènes d'environnement (*Escherichia coli*) observée peut sans doute être expliquée par les mauvaises conditions de logement et d'hygiène dans lesquelles se trouvent les animaux.



CONCLUSION
GÉNÉRALE ET
PERSPECTIVES

Conclusion :

L'importance de la mammite chez les vaches laitières est importante du point de vue de deux volets : l'un économique (coûts du traitement, réduction de la quantité et de la qualité du lait et réforme des vaches) et l'autre hygiénique (risque d'infection ou d'empoisonnement des consommateurs en consommant du lait contaminé). Dans ce contexte, s'inscrit cette étude qui se porte sur 30 prélèvements de lait mammitieux provenant de quelques élevages laitiers des communes de la wilaya de Djelfa (Al-Bireen, Massad, Ain Al-Chih, et Mejbara, et Ain oussara.) dont l'objectif est d'estimer la nature et la fréquence des germes responsables de ces infections et d'étudier certains paramètres épidémiologiques de cette préoccupation majeure des éleveurs laitiers.

Au terme de notre travail, ils ressortent les principaux points suivants :

- ↳ Les staphylocoques coagulases positifs sont les espèces les plus fréquemment isolées lors des mammites cliniques bovines 54,7%.
- ↳ Les germes opportunistes (staphylocoque coagulase négative) montrent une importance grandissante dans l'étiologie des mammites cliniques. Cela est à relier aux conditions de logement des animaux.
- ↳ L'enquête épidémiologique a permis de montrer que la mauvaise hygiène de la traite, le mauvais entretien de la litière et le non contrôle de la machine à traire ont constitué probablement des facteurs susceptibles d'augmenter le risque d'infection de la mamelle.
- ↳ Au point de vue épidémiologique, on a constaté que les mammites cliniques surviennent surtout durant dans le premier mois postpartum, et que le risque des mammites cliniques, augmente avec l'âge, ou plus exactement, avec le nombre de lactations des animaux.

2 / Recommandations :

❖ Traitement systématiquement les mammites cliniques en respectant les règles de base (Traitement avec antibiotique précoce, massif et soutenu effectué après des traites complètes, nettoyage et désinfection des quartiers à traiter). Pour guérir la vache malade et de limiter la gravité des lésions mais aussi de stopper l'excrétion des germes contaminants et éviter le passage à la chronicité.

❖ L'antibiotique de choix est celui qui ne présente pas de résistance à l'antibiogramme. Il

doit être un produit qui est facilement véhiculé dans la glande mammaire avec un prix optimal.

❖ La réforme des animaux incurables est nécessaire car ce sont des réservoirs permanents de germes qui augmentent le risque d'infection des vaches saines.

❖ Doivent être réformées les vaches présentant:

- ✓ Un quartier fibrosé.
- ✓ Plusieurs mammites cliniques durant une lactation.
- ✓ Un ou plusieurs quartiers restés infectés après un traitement correct au tarissement.

❖ Respecter la période de tarissement pour optimiser la lactation suivante

❖ Respecter les bonnes pratiques vétérinaires, telles que les mesures d'hygiène et de vaccination et l'utilisation de détergents et de désinfectants lors des opérations de lavage et de nettoyage.

❖ Sensibiliser l'éleveur au danger de cette maladie et aux risques d'utilisation anarchique des antibiotiques (générale ou intra-mammaire) tant pour la santé animale que publique, risque de l'antibiorésistance.

Pour contrôler la mammite, il faut un effort constant, l'objectif de la prévention est d'éviter de nouvelles infections et une diminution rapide du niveau d'infection dans le troupeau.

La connaissance précise des agents pathogènes de la mammite permet l'utilisation de mesures appropriées pour améliorer l'état de santé du pis des vaches laitières. Ceci est un élément essentiel en vue d'une amélioration qualitative et quantitative de la production laitière.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. ANDERSON K.L., 1990 - *Traitement des mammites colibacillaires aiguës*. Point Vétérinaire, 22 : 119-124.
2. ARAUJO W., 2007 - Le coût des maladies en élevage bovin laitier, quelques repères et application pratique, Ed *Journées Nationales des G.T.V.*, Tours : 463-470.
3. ARFAOUI W., 2000 - *Enquête bactériologique sur les mammites à Staphylococcus aureus chez la vache laitière*. Thèse Doct. Vétérinaire, Sidi Thabet, 108 p.
4. ARGENTE G., LARDOUX S., LE BERRE K., LABBE J-F., 2005 Valeur de l'observation clinique de symptômes simples de mammite pour prédire les bactéries en cause. Bull. Group. *Tech. Vét.*, 32, 39-46.
5. ASTRÔM G., 1972 - On the influence of ovariectomy, diethylstilbestrol and progesterone on healthy and chronically infected bovine udders. *Acta Vet. Scand.*, (Suppl. 39), 4-105.
6. BARNIUN J., FAYE J.C., JAY M., BROCHART M. et FAYE B., 1999 - Enquête éco-pathologique continue : facteurs de risque des mammites de la vache laitière. II. Analyses complémentaires sur données individuelles et d'élevage. *Can. Vet. J.*, 27 : 173-184..
7. BARONE R. (2001) *Anatomie comparée des mammifères domestiques*. Tome 4, Splanchnologie II. Paris : Vigot, P896.
8. BARONE, R., 1978 - *Anatomie comparée des mammifères domestiques*. Tome troisième. Ed : Vigot frère, Lyon. 879 p.
9. BARTLETT P.C. and MILLER G.M., 1993 - Managerial risk factors for intramammary coagulase positive staphylococci in Ohio dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, 17 : 33-40.
10. BELLIARD, ALEXANDRE, 2009 - *Relations entre épidémiologie, clinique et bactériologie des infections mammaires : application à la prédiction de la nature des germes responsables de mammites cliniques de la vache laitière dans les cotes d'Armor*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 80 p.
11. BENHAMED N., 2014 - Evaluation de la qualité microbiologique et sanitaire du lait cru de vache dans la région d'Oran, Algérie : Etude du profil moléculaire virulent des *Staphylococcus aureus* impliquées dans les mammites bovines. *Journal of Bacteriology Research Vol.5(4)*, pp,

12. BERGONIER D., BLANC B., FLEURY G., LAGriffouil F., Barilet X. et BertheloT, 1997 - Les mammites des ovins et des caprins laitiers : étiologie épidémiologie, contrôle. *Renc. Rech. Ruminants* .P251-260.
13. BERGONIER, D., BLANC, M. C., FLEURY, B., et al., 1997 - *Les mammites des ovins et des caprins laitiers: étiologie, épidémiologie, contrôle.*
14. BERTHELOT X, BERGONIER D., 2006 - La maîtrise des mammites cliniques en peripartum : une nouvelle priorité, épidémiologie descriptive et diagnostic. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, 1 : 17-21.
15. BINDJ L.,LEPLATRE J. et POULTREL B.,1980-les mammites : l'échantillon et son exploitation .bull.GTV,806-B:17-27.
16. BONNEFONT C., 2011 - *Analyses génomiques fonctionnelles de la résistance aux mammites : études de deux lignées divergentes de brebis sélectionnées sur la concentration cellulaire du lait.* Thèse pour le doctorat vétérinaire, université de Toulouse, 223 p.
17. BOSQUET G, ENNUYER M, GOBY L, LEISEING E, MARTIN S, SALAT O, SANDERS P, SEEGERS H, SERIEYS F., 2005 - *le praticien face au ciblage du traitement en lactation des mammites.* [ouvrons le dossier], conférence de consensus organisée par le laboratoire Bohringer ingelheim, 45 p.
18. BOSQUET G, FZROULT B, LABBE J-F, LE PAGE P., SERIEYS F. 2013 - Référentiel Vétérinaire pour le traitement des mammites bovines. *SNGTV, Paris, France.* 100 p.
19. BOUAZIZ O., 2005 - *Contribution à l'étude des infections intra mammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien.* Thèse Doctorat, Univ, m'entourai de Constantine, 110p.
20. BOUZID R., HOCINE A., MAIFIA F., REZIG F., OUZROUT R ., TOUATI K., 2019 - Prévalence des mammites en élevage bovin laitier dans le Nord-Est algérien. *Live stock Research for Rural Développement.* 23(4).
21. BRADLEY A. J., GREEN M. J., 2004 - The importance of the no lactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 20, 547-568.
22. BURTON J., and ERSKINE R., 2003 - Immunity and mastitis. *Some new ideas for an old disease vet. Clin. Food Anim.*, 19, pp. 1-45.
23. CASSINA, G., 1982 - La maison Louis Moret naguère Luy.

24. CHEPERS A-J., LAM T-J., SCHUKKEN Y-H., WILMINK J-B., HANEKAMP W-J., 1997 - Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters ». *J. Dairy. Sci.*, 80 (8): 1833-1840.
25. CONCANNON P.W., BULTER W.R., HANSEL W., KNIGHT P.J., HAMILTON J.M., 1978 - *Parturition and lactating in the bitch: Serum progesterone, cortisol and prolactin. Biol. Reprod.*-19(5): 1113-8p.
26. COUTURE Y., et MULON PY., 2005 - Procedures and surgeries of the teat. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 21, n° 1, pp. 173-204.
27. DE VliegHER S., H. W. BARKEMA G., OPSOMER A., DE KRUIF L., DUCHATEAU A., 2005 - Association between somatic cell count in early lactation and culling of dairy heifers using cox frailty models. *J. Dairy Sci.* 88: 560-568.
28. DELAVAL, 2010 - La glande mammaire.[<http://www.delavalfrance.fr/fr-nl/-/Savoirlaitier/Traite/La-glande-mammaire/>] (consulté le 9/8/23).
29. DINSMORE RP., ENGLISH PB., GONZALES RN., SEARS PM., 1992 - Use of augmented cultural techniques in the diagnosis of the bacterial cause of clinical bovine mastitis. *J. Dairy Sci. Doct. vété, Maisons Alfort 75* : 2706-2712.
30. DUMAS PL., FAROULT B., SERIEYS F., 2004 - Assurer le traitement en exploitation laitière : expérience et perspectives de l'action G.T.V. Partenaire. *Journées Nationales des G.T.V., Tours*, 71-75.
31. DUPONT J., 1980 .et POUTREL L., 1985- *L'infection mammaire inapparente :13 agents microbiens en cause et antibiogramme*. Thèse Méd. Vêt, Alfort, 53 p.
32. DUREL L., FAROULT B., LEPOUTRE D., BROUILLET P., 20 décembre 2003 au 2 janvier 2004 LE Page ph mammites des bovins (cliniques et subcliniques). *démarches diagnostiques et thérapeutiques. la dépêche technique*. supplément technique 87 a la dépêche vétérinaire du 39 p.
33. DUREL L., GUYOT H., THÉRON L., 2011 - *Vade-mecum des mammites bovines*. Éditions Med'Com, Paris, France. 270 p.
34. EBERTHART R.J., NATZKE R.P., NEWBOULD F.H.J., 1979 - Coliforms mastitis. *Are view. J, Dairy Sci*, 6: 1-22.
35. EMMANUEL F., 2008 - *les analyses bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs intérêts dans le traitement des mammites*. Thèse doctorat vétérinaire, médecine de Créteil, 13p.

36. FABRE J-M., MORVAN H., LEBREUX B., HOUFFSCHMITT PH., BERTHELOT X., 1997 - Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, partie 1 : mammites cliniques Bull. Group. Tech. Vét., 3-B, 17-23.
37. FABRE J-M., MORVAN H., LEBREUX B., HOUFFSCHMITT PH., BERTHELOT X., 1997 - Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, partie 1 : mammites cliniques Bull. Group. Tech. Vét., 3-B, 17-23.
38. FABRE M., BERTHELOT X., MORVAN H., LEBRET P., BLANC F. et BLANC C., 1991 - Estimation de la fréquence des différents germes responsables d'infections mammaires dans le Sud Ouest de la France. Revue Med. Vet, France, 142 : 823-829.
39. FALLET D., 1999 - Quelques aspects de l'épidémiologie des mammites cliniques de la vache laitière. Etude bibliographique et résultats d'enquête. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 143p.
40. FAROULT B., 2000 - Maladies des bovins .Institut d'élevage Edition France agricole, 64-75.
41. FAROULT B., SERYES F., 2005 - Antibiothérapie des mammites bovines. Bulletin des GTV Hors série médicaments, 208- 214, pp 64-70.
42. FAYE, B., DORR, N., LESCOURET, F., BAMOUIN, J., CHASSAGNE, M., 1994- Les infections intra-mammaires chez la vache laitière dans l'enquête éco pathologique Bretagne. INRA Productions Animales, 7(1), 55-65.
43. FETROW J., 1988 - Culling dairy cows. Proc.Am.Assoc.Bov.Pract. p102-107.
44. FLACHE H., 2002 - Cinétique des comptages cellulaires de quartiers après mammites cliniques chez la vache laitière. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 72p.
45. Fox LK, Gay JM. 1993. Contagious mastitis. Vet. Clin. North. Am., 9 (3): 475-488.
46. FRIHI H., et HADJADJ S., 2018 - Contribution à l'étude bactériologique sur les mammites cliniques chez les bovins. mémoire de master. Université zaine Achour, Djelfa, Algérie p101.
47. GAMBO, H., & ETCHIKE, C. A., 2001 - Dépistage de mammites succiniques chez des vaches Goudali en lactation au Nord Cameroun. Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays tropicaux, 54 (1), 5-10.
48. GEDILAGHINE V., 2005 - La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise

en place de l'action G.T.V. Partenaire dans le département de la Manche. Thèse pour le doctorat vétérinaire, E.N.V.A : 106 p.

49. GIANNEECHINI R., CONCHA C., RIVERO R., DELUCCI I., MOEENOLOPEZ J., 2002 - Occurrence of Clinical and Sub-Clinical Mastitis in Dairy Herds in the West Littoral Region in Uruguay, *Acta Vet Scand*, 43(4): 221–230.
50. GREEN L E., 2007 - Improving farm animal health - understanding infectious endemic disease. Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine. *Proceedings of a meeting held at Dipoli, Helsinki/ Espoo, Finland*, 13-25
51. GYLES, C. L., PRESCOTT, J. F., SONGER, J. F. et THOEN, C. O., 2010 - Pathogenesis of bacterial infections in animals. 4th edition. *Ames, Iowa: Wiley-Blackwell*.
52. HADDADI K, C. PRIN MATHIEU, F. MOUSSAOUI, G.C. FAURE, F. VANGROENWEGHE, C. BURVENICH, Y. , 2006 - Le Roux Polymorph nuclear neutrophils and Escherichia coli proteases involved in proteolysis of casein during experimental E. coli mastitis *Int. Dairy J.* 16 pp. 639-647
53. HAMANN J., ZECCONI A., 1998 - Evaluation of the electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 334 (1): 5-22.
54. HAMIROUNE M., BENYAHIA M., CHATOUH O., BENSEFIA S., SAIDANI K., FOUGHALIA A., BERBER A., 2017 - Mammites staphylococciques des vaches laitières: prévalence dans la région d'Alger et risques sur la santé publique. *Live stock Research for Rural Développent*. Volume 29, Article.
55. HANZEN Ch., 2006 - Pathologie infectieuse de la glande mammaire.. Accès Internet : <http://ulg.ac.be/oga/formation/chap30/index.htm?page=30-0.htm>. (Consultée le 19 Mars 2007).
56. HANZEN CH., 2014 - *physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire symptomatologie, étiologie et thérapeutiques. Approches individuelles et de troupeau des mammites*. P 96. 143-146. 166-167
57. HARMON R.J., LANGLOIS B.E., 1989 - Mastitis due to coagulase negative staphylococcus species. *AgrPractice*, 10(1): 29-34.
58. HARMON, R.J., 1994 - Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77:2103-2112.
59. JASPER D.E., DELLINGER J.B., BUSHNELL R.B., 1975 - Herds studies on coliform mastitis. *J. am. Vet. Med. Assoc.*, 166 : 778-780

60. JEAN B., 2010 - *Comparaison entre la méthode épidémiologique et la méthode bactériologique de diagnostic lors d'une épizootie de mammite en élevage bovine.* Thèse Doct vétér .Lyon. P 16-21.
61. JEAN B., 2010 - *Comparaison entre la méthode épidémiologique et la méthode bactériologique de diagnostic lors d'une épizootie de mammite en élevage bovine.* Thèse Doct. vét .Lyon.121p.
62. KINGWILL R.G., NEAVE F.K., DOOD F.K., GRIFFIN T.K. WESTGARTH D.R., 1977 - The effect of a mastitis control system on levels of subclinical and clinical mastitis in two years. *Vet. Rec.*, 87, 94-100.
63. KITCHEN BJ., MIDDLETON G., DURWARD I-G., 1980 - Mastitis diagnostic tests to estimate mammary gland epithelial cell damage. *J. Dairy. Sci.*, 63 : 978-983
64. KORIKAR N.et RABBAHI H., 2018 - *contribution à l'étude bactériologique sur les mammites cliniques chez les bovins.* Thèse de Master, Université Ziane Achour, Djelfa Algérie, 54p.
65. KOUTCHOUKALI M.A., 1980 - *Les mammites bovines dans la daïra de Constantine. Dépistage et bactériologie.* Mémoire de Doctorat Vétérinaire, Université Constantine, 41p.
66. KUTILA, T., PYRORALA, S., SALONIEMI, H., KAARTINEN, L., 2003 - *Antibacterial effect of bovine o lactoferrin against udder pathogens.* *Acta Vet. Scand.* 44, 35-42.
67. LE PAGE P., BOSQUET G., THERON L., LABBE J-F., FREDERICI-MATHIEU C et TISSERAND S., 2014 - Traitement et prévention des mammites bovines : actualités Supplément technique, *Dépêche Vétérinaire.* 39-136.
68. MARTEL JL., 1991 - Le diagnostic bactériologique des mammites. In Les mammites de la vache laitière. Ed *Société Française de Buiatrie.*, Paris, 18-19 décembre 1991 : 75-80.
69. MCDUGALL S., BRYAN MA., TIDDY RM., 2009 - Effect of treatment with the no steroidal anti-inflammatory meloxicam on milk production, somatic cell count, probability of retreatment, and culling of dairy cows with mild clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 92, 4421-4431.
70. MESSADI L, BENMILED L, HADDAD N., 1990 - Mammites bovines en Tunisie : Bactéries responsables et antibiorésistance. *Rev. Med. Vet.*, 142 : 313-319.
71. MIALOT J.P., 1983- Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. *Rev. Méd. Vét.*, 159, (11), 1057-1058.

72. MYLLYS V., HONKANEN-BUZALSKI T., HUOVINEN P., SANDHOLM M., NURMI E., 1994 - Association of changes in the bacterial ecology of bovine mastitis with changes in the use of milking machine and antibacterial drugs .*Acta vet. scand.*, 35, (4), 363-369.
73. NEWBOULD, G. D., Stray, S. J., & Wilson, K. W., 1976 - Shareholders' interests and acquisition activity. *Accounting and Business Research*, 6(23), 201-215.
74. NIAR A., GHAZY K., DAHACHE SY., 2000 - Incidence des mammites sur les différents élevages bovins de la wilaya de Tiaret 4 séminaire international de médecine Constantine 21-22 .
75. NICKERSON S.C., 1993 - "Eliminating chronic Staphylococcus aureus mastitis", *vet. med.*, 90,. 375-381p.
76. NOIRETERRE., 2006 - *Suivis de comptages cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites clinique chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d'élevage Lucin Bizet de Poisy*. Thèse Doctorat Vétérinaire, Univ, Claude-Bernard, Lyon I, 29-94p.
77. NORBERG E., HOGEVEEN H., KORSGAARD I-R., FRIGGENS N-C., SLOTH, K-H. et LOVENDAHL P., 2004 - Electrical conductivity of milk: ability to predict mastitis status ». *J. Dairy. Sci.* 87, 1099-1107.
78. OLIVER J., DODD F.H., NEAVE F.K. and 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.
79. ONS (2020).Office national des statistiques algériennes. <https://www.ons.dz/>
80. PAAPE M-J., POUTRE B., CONTRERAS A., MARCO J-C. et CAPUCO A-V., 2001 -Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J. Dairy Sci.* 84: 237-244.
81. POUGET, M., 2006 - *Salmonellose mammaire ovine: caractérisation Clinique et bactériologique* (Doctoral dissertation).
82. POUTREL B., 1983 - La sensibilité aux mammites : revue des facteurs liés à la vache. *Ann. Rech. Vet.*, 14, 89-104.
83. POUTREL B., 1985 - Généralités sur les mammites de la vache laitière : processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. *Rec. Méd. Vét.* 161 (6-7) : 497-511p.
84. QUINN P., CARTER M., MARKEY B. et CARTER G., 1994 *Mastitis*. In: *Clinical veterinary microbiology*, Mosby Year Book, London, 327-345.

85. RAHMOUNI-ALAMI I., MAZOUZ A., 2003 - Etudes des protocoles de traitement des mammites bovines au Maroc (enquête de terrain). XX Congrès Vétérinaire Maghrébin, 8 et 9 mai 2003, Fès Maroc.
86. RAINARD P., POUTREL B., 1995 - Deposition of complement components on *Streptococcus agalactiae* in bovine milk in the absence of inflammation. *Infection and Immunity*, 7, 3422-3427
87. RAINARD P., 1985 - Les mammites colibacillaires. *Rec. Méd. Vét.*, 161 :529-537.12
88. RAINARD P., POUTREL B., 1982 - Dynamics of nonclinical bovine intramammary infections with major and minor pathogens. *Am. J. Vet. Res.* 43, 2143-2146.
89. RAKOTOZANDRINDRAINNY R., FOUCRAS G., 2007 - Etiologie bactérienne des mammites des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. *Rev. Méd. vét.*, 158 : 106-110.
90. REMY D., 2010 - Les mammites. Éditions *France Agricole*, Paris, France, 259p. <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?Id=1096> (consulté le 20/03/223).
91. SAIDANI M., SOUDANI A., DAALOUL M., BEN CHEHIDA F., MAMLOUK A. et MESSADI L., 2016 - Prévalence et antibiorésistance d'*Escherichia coli* dans les mammites bovines au Nord de la Tunisie. 18-19-2016.
92. SEEGERS H., MENAED J.L. et FOURICHON C., 1997- Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. *Ren. Rec. Ruminants*, 4 : 233-242.
93. SELEIM RS, AMANY Y, RASHED M, FAHMY BGA., 2002 - Mastitis pathogens: attachment-related virulence features, whey protein markers and antibiotic. *Vet. Med. J. Giza*, 50 (3) : 405-418.
94. SEMNANI M.J., KABBUR M.B., JAIN N.C, 1990 - Activation of bovine neutrophil functions by interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1 alpha *Comp. Haematol. Int.*, 3, 1993, 81-88.
95. SEMNANI, A., & SHAMSIPUR, M., 1993 - Spectroscopic study of charge transfer complexes of some benzo crown ethers with π -acceptors DDQ and TCNE in dichloromethane solution. *Spectrochimique Acta Part A: Moléculaire Spectroscopy*, 49(3), 411-415.
96. SERIEYS F., 1985 - La numération des cellulaires du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. *Rec. Méd. Vét.*, p : 161-553-566.

97. SHYAKA A., 2007 - *Diagnostic des mammites cliniques et subcliniques enlevage bovin laitier intensif* (cas de la ferme de wayembam). obtenir le grade de docteur vétérinaire (diplôme d'état).
98. SOLTNER, D., 2001 - La reproduction des animaux d'élevage. 3ième édition. Ed : *Sciences et techniques agricoles*. 224 p.
99. SORDILLO LM, SHAFER-WEAVZR K, DE ROSA D., 1997 - Immunology of the mammary gland. *J. Dairy Sci.*, 80: 1851-1865.
100. STORPER M, SARAN A, Ziv G., 1982 - Effect of storing milk samples at -18°C the viability of certain udder pathogens. *Refuah Vet.*, 39: 6-7.
101. SUTRA L., POUTREL B., 1994 - Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol*, 40, 79-89.
102. UBIFRANCE., 2014 - Le marché de la filière viande en Algérie. Business France, 50 p.
103. VIGUIER, C., ARORA, S., GILMARTIN, N., WELBECK, K., & O'KENNEDY, R., 2009 - Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in biotechnology*, 27(8), 486-493.
104. WILESMITH JW, FRANCIS PG, WILSON C.D., 1986 - Incidence of clinical mastitis in a cohort of British dairy herds. *Vet. Record*, 118: 199 -204.
105. WILLIERS C., 1995 - C3, protéine du complément : une molécule aux multiples capacités. *Médecine / Sciences*, 11: 1419-1429.
106. ZIKEM ET SEGHEIR., 2021 - *Contribution à l'étude bactériologique sur les mammites cliniques chez les bovins dans la région de Djelfa*, Thèse de Master, Université Ziane Achour, Djelfa Algérie, 85p.

Annexes1:

A-Matériel de prélèvement et d'analyse

1-Matériel usuel

1-1- Matériel jetable:

- Gant en latex
- Papier buvard
- Pipettes pasteur stériles
- Lames et lamelles couvre-objet
- Boîtes pétri stériles (90 mm)
- Pots prélèvement stériles.

1-2-Matériel stérilisable:

- Tubes à essai
- Flacon de 250 ml
- Fioles de 500 ml
- Ciseaux

1-3-Solutions:

- Eau physiologique à 0,9%
- Eau distillée
- Ethanol à 95%
- Huile à immersion
- Les colorants de Gram

2 –Equipements:

- Microscope optique
- Poire
- Anse de platine

- Bec bunsen
- Etuve réglable
- Balance de précision
- Marqueurs
- Portoir
- Bain-marie
- Plaque chauffante
- Stérilisateur
- Autoclave
- Réfrigérateur.

3-les Milieux de culture:

- ✓ Mannitol salt agar (G
- ✓ élose hyper salée au mannitol)
- ✓ Héktoen
- ✓ Citrate
- ✓ Gélose TSI (IPA)
- ✓ nutritive inclinée (GNI)
- ✓ bouillon cœur cerveau (BHIB)



Figure : Les milieux de culture.

Annexe (2)

➤ Préparation des Milieux de culture utilisés

→ Techniques de préparation des différents milieux de culture utilisés pendant l'étude :

1-Bouillon cœur-cervelle

Est un milieu à base d'infusion de cultiver un grand nombre de microorganismes (bactéries, levures et moisissures)

Le BHI est un milieu nutritif tamponné, à base d'infusions de tissus de cœur et de cervelle et de peptones, qui apporte les protéines et les autres nutriments nécessaires à la croissance des microorganismes exigeants.



Figure: préparation de Bouillon cœur-cervelle (originale).

1-1- Préparation

- Verser 18.5 g de poudre dans 500 ml d'eau distillée
- porter à ébullition jusqu'à dissolution complète-
- répartir la solution dans les récipients adéquats (tubes ou flacons).-
- stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave-

- refroidir à température ambiante-

2) Mannitol Salt agar (Gélose hyper salée au mannitol)

Est utilisée pour l'isolement sélectif des staphylocoques et la détection des *Staphylococcus aureus* à partir d'échantillons cliniques.

2-1-Principes :

La Mannitol Salt Agar est une préparation élaborée par Chapman pour différencier les staphylocoques coagulase positifs (p. ex. *Staphylococcus aureus*) des staphylocoques coagulase négatifs. Elle est utilisée pour isoler les staphylocoques provenant d'échantillons cliniques, de cosmétiques et pour les tests de dénombrement des microorganismes.

2-3- Préparation :

- Verser 55.5g de poudre dans 500 ml d'eau distillée,-
- Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, -
- Stériliser 15 minutes à 121°C l'autoclave,-
- Refroidir a 50°C. -
- Verser environ 15 ml du milieu complet dans des boites de pétri stériles,-
- Laisser se solidifier, juste avant l'emploi,-
- Sécher soigneusement les boites de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles,
- Retourner les boites dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

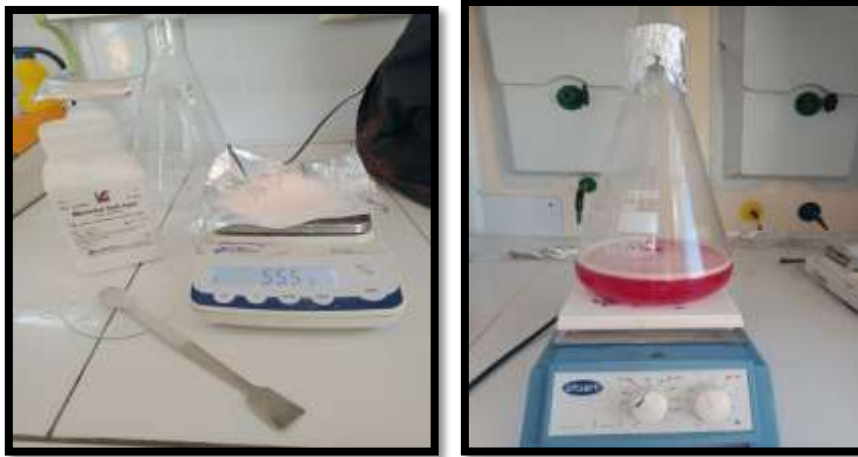


Fig08: Préparation de mannitol (originale).

4- Gélose de Héктоen:

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant l'isolement et différenciation des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des autres produits alimentaires. Elle est également utilisée dans le domaine de la santé animale dans le cadre de la recherche des salmonelles chez les mammifères. Ce milieu est particulièrement adapté à la culture des *Shigella*. Il évite l'envahissement par les *Proteus*.

4-1- Principes:

-L'inhibition de la flore à Gram positif est due à la présence des sels biliaires qui peuvent également inhiber légèrement la croissance de quelques souches de microorganismes à Gram négatif.

-Le milieu contient trois glucides : lactose, saccharose et salicine. La forte concentration en lactose favorise la visualisation des entérobactéries en évitant le problème des fermentations tardives. Les autres glucides ont été introduits afin d'assurer une différenciation plus performante et de réduire la toxicité engendrée par les indicateurs colorés, de manière à obtenir une excellente récupération des *Shigella*. -En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène réduisent le citrate ferrique ammoniacal et se manifestent par un noircissement dû à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies. • Le système d'indicateurs colorés, composé de bleu de bromothymol et de fuchsine

acide permet de colorer en jaune orangé les entérobactéries lactose-positif et en bleu vert les lactose-négatif.

4-2-Préparation

Verser 38.5 g de poudre dans 500 ml d'eau distillée, porter à ébullition jusqu'à dissolution complète, Ne pas autoclave , refroidir a 50°C.Verser environ 15 ml du milieu complet dans des boites de pétri stériles, laisser se solidifier,

Juste avant l'emploi, sécher soigneusement les boites de milieu gélose, de préférence après avoir retiré les couvercles, retourner les boites dans une enceinte de séchage jusqu'à ce que la surface de la gélose soit exempte d'humidité visible.

5- Gélose TSI:

La gélose TSI (Triple SugarIron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

5-1) Principes:

Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune le rouge de phénol (indicateur pH)

- Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer au jaune la pente du tube.
- Les microorganismes ne fermentant aucun des trois sucres ne modifient pas la couleur du milieu.
- La production de sulfure d'hydrogène se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.
- La production de gaz (hydrogène, dioxyde de carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit ou bien par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose.

5-1-Préparation:

- Mettre en suspension 30,05 g de milieu déshydraté dans 500ML d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes. - Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- Incliner les tubes de manière à obtenir un culot de 3 cm de hauteur et une pente oblique.

5-2-Mode opératoire

En utilisant une ou deux colonies de confirmation, on ensemence en stries la pente de milieu puis le culot par une piqûre centrale jusque au fond de la gélose.

Incuber à 37°C pendant 24 heures et prolonger jusque 2 jours si nécessaire.

5-3-Lecture

La fermentation de l'un des sucres va engendrer des sous-produits qui sont généralement acides, ce qui va entraîner un changement de couleur du milieu vers le jaune (virage au jaune de la rouge phénol), la production de gaz se traduit par l'apparition des bulles de gaz, et le milieu est complètement séparé ou soulevé.

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

(1) Fermentation de glucose

- Culot rouge : glucose non fermenté
- Culot jaune : glucose fermenté

(2) Fermentation du lactose et/ou du saccharose

- Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés
- Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

(3) Production de gaz

- Apparition de gaz dans le culot.

(4) Formation d'H₂S

- Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

6- Gélose au sang

Ce milieu enrichi de sang est un milieu qui permet l'isolement des bactéries exigeantes sans interférer avec leurs réactions d'hémolyse

6-1-Principe:

La croissance de la plupart des bactéries est favorisée par les substances nutritives apportées par la peptone et l'extrait de levure

6-2-Préparation :

- dissoudre 20 g de poudre dans un 500 ml d'eau distillée
- porter à ébullition jusqu'à dissolution complète
- répartir la solution dans les récipients adéquats (tubes ou flacons)
- puis stériliser à l'autoclave à 121C pendant 15 min

7- le milieu citrate de Simmons :

Ce milieu permet l'étude de l'utilisation, par la bactérie, du citrate (acide organique) comme seule source de carbone

7-1-Principe :

le principe du milieu repose sur l'aptitude de certains microorganismes à pouvoir se développer avec le citrate comme seule source de carbone et d'énergie le métabolisme du citrate est visualisée par le virage de l'indicateur coloré au bleu

7-2: préparation

- Dissoudre 10,5 g de poudre dans 500 ml d'eau distillée,
- Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène,
- Chauffer lentement, en agitant fréquemment,
- Puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète
- Répartir à raison de 3 à 5 ml par tube et stériliser à l'autoclave à 121 C pendant 20 minutes, laissé refroidir en position inclinée

7-3 Ensemencement

- Par stries sur la pente à l'aide d'une pipette Pasteur fermée.
- Incuber 24 heures à 37°C, bouchon dévissé.

8- gélose nutritive :

8-1 principes:

Relativement simplifiée, la formulation apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une grande variété de germes non exigeants.

8-2 préparations :

- Mettre en suspension 20,0 g de milieu déshydraté (BK185) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes

Annexe (3)

Techniques microbiologiques

1-Technique de la coloration de Gram

1-Réalisation de frottis

- Sur une lame, déposer une goutte d'eau physiologique stérile.
- Ajouter à l'aide d'anse de platine stérilisée une fraction de colonie bien isolée.
- Étaler et fixer à la chaleur (au-dessus de flamme de bec bunsen).
- Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

2-Réalisation de la coloration

- Voici succinctement les différentes étapes de cette coloration :
- Coloration par le violet de gentiane.
- Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau de robinet.
- Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 30 secondes ; Rincer à l'eau de robinet.
- Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone): verser goutte à goutte un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Rincer sous un filet d'eau de robinet.
- Recoloration à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau de robinet.
- Sécher la lame et Observer au microscope optique à objectif 100 à immersion (**grossissement $\times 1000$**).

- **Lecture**

- Une coloration violette \longrightarrow des bactéries à gram positifs
- Une coloration rose \longrightarrow des bactéries à gram négatifs



Figure: les produits utilisés dans la coloration de Gram.

2-Recherche de l'oxydase

- **Principe**

Ce test permet la mise en évidence d'une enzyme qui est la (phénylène diamine oxydase) de la bactérie à partir de leur culture en milieu gélosé

Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif : N dimethyl para phénylène diamine qui est incolore, et en présence de l'enzyme, il libère un composé bleu violacé.

- **Mode opératoire**

À l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur, prélever une colonie et la déposer sur une bandelette imprégnée par un réactif pour la recherche de l'oxydase (tetraméthyl-p-phénylène-diamine dichlorohydrate (oxoide).

3-Test de la catalase :

→ **Principe**

En présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation de l'eau oxygénée. La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et en oxygène.

→ **Mode opératoire**

À l'aide d'une anse de platine, Une colonie bien isolée est déposée sur une lame porte-objet propre avec une goutte d'eau oxygénée à 3%.

→ **Lecture**

La présence de la catalase est révélée par un dégagement gazeux sous forme de bulles dans les 30 secondes.



Figure: le produit utilise dans le test de catalase.

Annexe (4)



Questionnaire méthodes d'élevage :

Identification de l'élevage :

Nom de l'éleveur :

Adresse :

Caractéristique de l'exploitation

Brebis

- ✓ nombre de total :dontprimipares
- ✓ race :

Bâtiment :

Stabulation

Libre

Entravée

Etat de propreté

Mauvais

Moyen

Bon

Nature du sol :

Sol : Sec Humide Boueux

Nature de la litière :

Fréquence de paillage :

Fréquence de nettoyage :

Équipements :

Mangeoires :

Abreuvoirs :

Alimentation

Parcours forestier, chaumes :

Fourrage :

Paille :

Concentrés :

Compléments : pierre à lécher, CMV...

Transition alimentaire autour de la mise bas

Mammites :

- Fréquence des mammites dans l'élevage :
- Saison :

En hivers en printemps en été en automne

- En début de lactation
En pic de lactation
En fin de lactation

- Détection

Observation quotidiens des animaux aux :

Logement Oui non

Lors de traite Oui non

Symptômes d'appel :

Animaux tristes, prostrés ? Oui non

Observation de la mamelle ? Oui non

Palpation de la mamelle ? Oui non

Observation des premiers jets ? Oui non

- Devenir de l'animal

Tarissement du quartier atteint

Tarissement des 2 quartiers

Réforme (nombre/an)

Séparation de l'animale

Traite en dernier

Traitement

- Intervention d'un vétérinaire ou technicien :

Utilisation de seringues intra-mammaires :

Modalité d'utilisation des seringues :

- vidange préalable du quartier
- désinfection de l'extrémité du trayon

- Devenir du lait :

- Jeté

- Donné aux agneaux

- Consommation humaine (familiale ou fromagerie)

- Isolement des animaux atteints dans un bâtiment séparé ? Oui non

Traite des animaux atteints :

Traite manuelle Oui non

Traite en fin de lots Oui non

Le traitement est-il systématique dès les premiers signes Oui non

- parmi les brebis traites, y'a-t-il celles qui ont présente une antibiorésistance : oui

non Si oui, quels sont les produits

Mortalité :

Nombre de morts suite à une mammite clinique / an :

Résumé :

Les mammites se définissent par la présence et la multiplication d'une population bactérienne dans un ou plusieurs quartiers de la mamelle. Cette maladie a des répercussions négatives au plan économiques, principalement en raison d'une diminution de la qualité et la quantité de la production laitière (faible production, le lait négligé).

L'objectif de cette étude est d'estimer la fréquence et l'importance des différentes espèces bactériennes responsables des mammites cliniques au niveau de quelques élevages des communes de la wilaya de Djelfa et de mettre en évidence certains aspects épidémiologiques. Nous avons tenté d'établir deux approches, une du terrain, à travers d'une enquête sous forme d'un questionnaire et autre du laboratoire à l'aide d'un diagnostic bactériologique chez des vaches atteintes de mammites cliniques.

Des analyses bactériologiques ont été effectuées sur 30 échantillons de lait mammitique. Les bactéries isolées comprenaient des Staphylocoques coagulases positifs (SCP) (54.77 %), *E. coli* (21.42 %), des Staphylococcus à coagulase négative (SCN) (11.9 %) et les *Proteus vulgaris* (7.14 %). La majorité des cas de mammitique clinique se produisent en début de lactation (1-4 semaine ; 73.33 %) et les risques s'accroissent avec le nombre de lactations.

Mots clés : mammites cliniques, vaches laitière, Bactérie. Djelfa.

Summary:

Mastitis is defined by the presence and multiplication of a bacterial population in one or more quarters of the udder. This disease has negative economic repercussions, mainly due to a decrease in the quality and quantity of milk production (low production, neglected milk). The objective of this study is to estimate the frequency and importance of the different bacterial species responsible for clinical mastitis at the level of some farms in the communes of the wilaya of Djelfa and to highlight certain epidemiological aspects. We have tried to establish two approaches, one from the field, through a survey in the form of a questionnaire and the other from the laboratory using bacteriological diagnosis in cows with clinical mastitis. Bacteriological analyzes were carried out on 30 samples of mastitis milk. Bacteria isolated included coagulase positive Staphylococci (CCP) (54.77%), *E. coli* (21.42%), coagulase negative Staphylococcus (CNS) (11.9%) and *Proteus vulgaris* (7.14%). The majority of cases of clinical mastitis occur at the start of lactation (1-4 weeks; 73.33%) and the risks increase with the number of lactations.

Key words: clinical mastitis, dairy cows, Bacteria, Djelfa

ملخص:

يتم تعريف التهاب الضرع بوجود وتكاثر التجمعات البكتيرية في ربع أو أكثر من الضرع. هذا المرض له تداعيات اقتصادية سلبية ، ويرجع ذلك أساساً إلى انخفاض جودة وكمية إنتاج الحليب (إنتاج منخفض ، حليب مهمل). وكان الهدف من هذه الدراسة التعرف على أنواع البكتيريا المسؤولة عن التهاب الضرع السريري على مستوى بعض المزارع في بعض من بلديات ولاية الجلفة ، حاولنا إتباع نهجين ، أحدهما ميداني ، على شكل استبيان والآخر سريري باستخدام التشخيص البكتريولوجي في الأبقار المصابة بالتهاب الضرع السريري. أجريت التحاليل الجرثومية على 30 عينة من حليب الضرع. تضمنت البكتيريا المعزولة المكورات العنقودية الإيجابية للنتخثر (54.74) (CCP) % ، (والإشريكية القولونية) (21.42) % والمكورات العنقودية السلبية المخترة (CNS) (11.9) % ، متقلبة شائعة (7.14) % . (تحدث غالبية حالات التهاب الضرع السريري في بداية الرضاعة (1-4 أسابيع ؛ 73.33) % وتزداد المخاطر مع عدد مرات الرضاعة. الكلمات المفتاحية : التهاب الضرع السريري ، الأبقار الحلوب ، البكتيريا ، الجلفة .