



المجلة الجزائرية للمناطق الجافة

Journal Algérien des Régions Arides (JARA)

Algerian Journal of Arid Areas

Research Paper

EVALUATION D'UN TEST DE DIAGNOSTIC RAPIDE DES MAMMITES:
SPEED MAM COLORSAIDI Radhwane¹, MIMOUNE Nora^{2-3*}, BENAÏSSA Mohammed Hocine⁴, BAAZIZI Ratiba²,
KHELEF Djamel², KAIDI Rachid⁴

(1)Département d'Agronomie, Université Amar Telidji-Laghouat.

(2)Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Bab-Ezzouar, Algérie.

(3)Institut des Sciences Vétérinaires, LBRA, université de Blida 01, Algérie.

(4) Scientific and Technical Research Center for Arid Areas, Biophysical Station, Touggourt, Algeria.

Received: 05 November 2019 ; Accepted: 07 December 2019; Published: December 2019

Abstract

The objective of this study was to evaluate a test for the rapid diagnosis of mastitis in cattle farms in the central region of Algeria. The study was conducted on 100 lactating cows belonging to 15 farms. The test evaluated was the speed® mam color. These cows were screened for mastitis by the California Mastitis Test (CMT). The positive samples at the CMT were subjected to a bacteriological analysis, to identify the pathogenic germs. The classic bacteriological analysis and the Speed® Mam Color were used for the identification of pathogenic bacteria responsible for bovine mastitis and the achievement of a rapid antibiogram. With CMT, the prevalence of subclinical mastitis was evaluated at 25% of cows tested and bacteriological culture using a rapid test: speed® mam color was positive in 96% [24/25] of cows positive at WCL. However, classical bacteriological analysis of CMT-positive samples showed a positivity of 100% [25/25]. This result showed a very good correlation [96%] between rapid test results and conventional bacteriological analysis and therefore a good reliability of the rapid test used for the identification of intra-mammary infections. Thus, the Speed® Mam Color seems to be an advantageous tool to develop, in small or large scale, for a rapid diagnosis, systematic and regular in an integrated program of the fight against mastitis.

Key Words: Speed® Mam Color, mastitis, rapid diagnosis, bacteriology, cows.

Résumé

L'objectif de la présente étude était d'évaluer un test pour le diagnostic rapide des mammites, dans les élevages bovins de la région centre de l'Algérie. L'étude a été réalisée sur 100 vaches en lactation appartenant à 15 élevages. Le test évalué était le speed® mam color. Ces vaches ont fait l'objet d'un dépistage des mammites par le test CMT (California Mastitis Test). Les prélèvements positifs au CMT ont fait l'objet d'une analyse bactériologique, pour identifier les germes pathogènes. L'analyse bactériologique classique et le Speed® Mam Color ont été utilisés pour l'identification de bactéries pathogènes responsables de mammites bovines et la réalisation d'un antibiogramme rapide. Avec le CMT, la prévalence des mammites subcliniques a été évaluée à 25% des vaches dépistées et la culture bactériologique à l'aide d'un test rapide : speed® mam color était positive chez 96% [24/25] des vaches positives au CMT. Cependant, l'analyse bactériologique classique des échantillons positifs aux CMT a montré une positivité de 100% [25/25]. Ce résultat a montré une très bonne corrélation [96%] entre les résultats du test rapide et l'analyse bactériologique classique et donc, une bonne fiabilité du test rapide utilisé pour l'identification des infections intra-mammaires. Ainsi, le Speed® Mam Color semble être un outil avantageux à développer, à petite ou à grande échelle, pour un diagnostic rapide, systématique et régulier dans un programme intégré de lutte contre les mammites.

Mots Clés : Speed® Mam Color, mammite, diagnostic rapide, bactériologie, vaches.* Corresponding author : **MIMOUNE Nora** National high school of veterinary medicine, Algiers, Bab-Ezzouar, Algeria.

E-mail address: nora.mimoune@gmail.com



1. Introduction

Chez les bovins laitiers, les mammites sont particulièrement fréquentes et coûteuses pour les producteurs de lait, ce qui en fait une problématique majeure pour l'industrie laitière dans la plupart des pays du monde (Capurro et al. 1999 ; Sahoo et al. 2012). La mise en évidence des mammites est difficile. Elle repose soit sur l'observation des premiers symptômes par l'éleveur, soit sur une mesure indirecte : le comptage des cellules somatiques dans le lait. Dans les deux cas, la détection est généralement tardive, et ne renseigne pas sur l'identité du germe impliqué.

De plus, les signes cliniques ont une mauvaise corrélation avec la nature de la bactérie causant une mammite (Bradley et Green 2000 ; Bastien-Ceret et al. 2004). Les modèles épidémiologiques environnementaux et contagieux mis en place afin d'orienter le diagnostic, se basent sur des critères cliniques peu précis et sur les analyses des comptages cellulaires. Cela nécessite la consultation des documents d'élevage, qui ne sont pas toujours disponibles et peu compatibles avec le traitement d'un cas de mammite. Néanmoins, ils restent indispensables pour comprendre une flambée d'infection ou pour suivre la guérison par la régression des taux cellulaires, pour suivre l'ensemble de l'élevage.

Face à une mammite clinique ou subclinique, le vétérinaire doit pouvoir prescrire rapidement un traitement adéquat, une proposition de réforme ou un traitement au tarissement. La bactériologie sur le lait individuel permet de connaître la nature du germe responsable de la mammite (Van De Leemput, 2007). Un antibiogramme ou simplement les connaissances acquises par chacun sur la sensibilité aux antibiotiques des différents germes d'infections mammaires, autorise le vétérinaire à prescrire un traitement raisonné et ciblé.

L'analyse bactériologique permet un diagnostic de certitude de l'infection mammaire. Il consiste en la mise en culture du lait afin de déterminer la nature du germe responsable de l'infection. Le praticien vétérinaire peut prescrire cet examen en réalisant un prélèvement de lait et en adressant rapidement, sous régime du froid, au laboratoire. Les résultats sont obtenus entre 5 et 8 jours, ce qui permet sur plusieurs prélèvements, d'orienter sur la nature du germe, les mesures médicales et prophylactiques à mettre en œuvre. Cependant, le coût, les conditions de transport sous l'égide du froid et les délais pour obtenir les résultats de l'ordre d'une semaine, sont incompatibles avec le traitement d'une mammite clinique, ce qui a limité le recours à ce type d'analyse.

Le recours aux méthodes rapides s'avère un préalable indispensable en permettant de réduire le coût et d'avoir les résultats entre 24 et 48 heures sur les principaux germes de mammites (Bidaud et al. 2007; Van De Leemput 2007).

Dans ce contexte, des firmes ont opté pour des méthodes plus simplifiées et rapides des techniques de laboratoire, autorisant un résultat entre 24 et 48 h, pour les germes majeurs d'infections mammaires (Blains 2004; Durel et Poutrel 2006 ; Van De Leemput 2007).

Dans l'étude présentée dans ce chapitre, nous allons décrire une méthode rapide, aisée et simplifiée basée sur les techniques des laboratoires agréés, permettant de réaliser une bactériologie sur le lait d'infection mammaire bovine dont les résultats sont obtenus en 24 heures et permet de proposer un antibiogramme en 48 heures. Nous comparons ensuite les résultats obtenus avec cette méthode avec ceux de la bactériologie classique dont le but de mettre en évidence sa fiabilité et son intérêt comme une aide précieuse dans le diagnostic et le traitement raisonné des mammites.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel animal

15 élevages bovins situés dans les wilayets d'Ain Defla et Blida (Algérie), ont fait l'objet d'une étude portant sur le dépistage des mammites subcliniques chez les vaches. Les élevages renferment entre 3 et 25 vaches de différentes races. Dans cette enquête, 100 vaches (400 trayons dont 4 se sont révélés non fonctionnels) sont dépistées par le CMT.

2.2. Critères d'inclusion

Une vache, pour être incluse dans l'étude [prélevée], doit présenter au moins un quartier positif au CMT. Un questionnaire comportant des informations sur l'animal prélevé est joint à tout prélèvement réalisé. Les échantillons de lait sont prélevés, puis envoyés au laboratoire vétérinaire régional de Laghouat. Est considéré atteint de mammite subclinique tout quartier présentant un CMT positif le jour du prélèvement, donc un score supérieur à 0.

2.3. Analyses réalisées

Les prélèvements positifs au CMT font l'objet d'une analyse bactériologique, pour identifier les germes pathogènes. L'analyse bactériologique classique et le Speed® Mam Color sont utilisés pour l'identification de bactéries pathogènes responsables de mammites bovines et la réalisation d'un antibiogramme rapide. Un prélèvement est considéré comme poly-contaminé s'il présente plus de deux espèces bactériennes. Les isolats font l'objet d'un antibiogramme. L'analyse bactériologique classique est effectuée selon la méthode décrite par QUINN et al. [2002].

2.4. Analyse bactériologique par le test rapide

Speed® Mam Color est une mini-galerie de culture dans laquelle quatorze puits sont consacrés aux sensibilités et résistances bactériennes pour 14 molécules [ou associations de molécules] antibiotiques [Amoxiciline + Ac. clavulanique, Ampicilline + Colistine, Céfalexine, Céfoperazone, Cefquinone, Cloxaciline, Danofloxacin, Gentamicine, Marbofloxacin, Pénicilline G + Streptomycine, Spiramycine, Sulfadimidine + Triméthoprim, Tétracycline + Néomycine + Bacitracine et Tylosine].

Sept puits sont consacrés à l'identification de la [ou les] bactérie[s] pathogène [s] [staphylocoques, streptocoques, *E. coli*, entérobactéries, *Listeria*, mycoplasmes et *Pseudomonas*].

Trois puits signalent le délai de lecture pour considérer uniquement l'antibiogramme de l'agent pathogène et non celui d'un éventuel contaminant. L'un de ces 3 puits se nomme puits IL [Incubation Limite], il est le seul puits à ne pas recevoir le prélèvement de lait. Le résultat de l'antibiogramme de l'agent pathogène doit se lire avant ou pendant l'expression du puits IL.

Les résultats obtenus par Speed® Mam Color se lisent puits par puits. Le développement bactérien est révélé par un virage de couleur [variable selon le puits]. Il indique alors une résistance de l'agent pathogène aux antibiotiques des puits correspondants [pour les 14 puits antibiotiques] et indique le type d'agent pathogène présent [pour les 7 puits d'identification bactérienne] (Figure 1).



Figure 1: Speed® mam color.

Présentation

Un kit de 5 tests [réf. SMC 5 T] comprend :

- 5 étuis de galeries Speed® Mam Color avec étiquette adhésive individuelle,
- 5 flacons de milieu de culture,
- 1 flacon Supplément Staph,
- 1 flacon d'huile de paraffine,
- 5 pipettes stériles,
- 3 supports de galerie pour la BVTuive.

2.5. Matériel nécessaire pour le prélèvement (d'après Faroult et al. 2003)

Le prélèvement de lait ne nécessite qu'un matériel de base restreint.

2.6. Technique de prélèvement

La valeur de l'examen bactériologique des laits de mammites dépend en grande partie de la qualité du prélèvement. Pour cela, la collecte du prélèvement de lait doit se faire le plus stérilement possible. La technique de prélèvement est inspirée des méthodes de certains auteurs (Wilesmith et Francis 1986; Lacombe 1998).

Les principales phases de prélèvements sont les suivantes :

1. Lavage des mains.
2. Lavage et séchage des trayons.
3. Désinfection de l'extrémité du trayon avec un tampon de coton imbibé d'alcool à 70°.
4. Elimination des premiers jets.
5. On saisit le flacon à prélèvement entre le pouce et l'index de la main gauche et on le retourne de telle sorte que le bouchon soit dirigé vers le bas.

6. On dévisse le bouchon avec la main droite et on le porte entre l'index et le médium de la main gauche. Tube et bouchon ont alors leur ouverture dirigée vers le bas afin d'éviter toute contamination.
7. On saisit le trayon de la main droite, on le ramène en position latérale et on trait presque horizontalement dans le flacon incliné au moment où le lait gicle.
8. On referme le flacon avant de le redresser.
9. On identifie le flacon en inscrivant la date, le numéro de l'animal et le quartier prélevé.
10. Les prélèvements sont transportés dans un container isotherme jusqu'au laboratoire vétérinaire régional de Laghouat.

Avant l'ensemencement de la galerie, le prélèvement de lait est sorti du froid et laissé pendant 30 minutes à température ambiante [ou dans l'étuve à 35°C].

2.7. Manipulation au laboratoire

- 1- Ouvrir le sachet d'une galerie, inscrire le nom de l'animal et la date sur l'étiquette adhésive, puis retirer cette étiquette.
- 2- Prendre un flacon de milieu de culture, déposer à l'aide d'une pipette 3 gouttes de ce flacon dans le puits IL [puits ne recevant pas le prélèvement].
- 3- Après homogénéisation du lait dans son flacon, transférer 3 gouttes de lait avec la même pipette dans le même flacon de milieu de culture. Homogénéiser le flacon par quelques agitations.
- 4- Inoculer les puits de la galerie, un par un, en déposant 3 gouttes de ce mélange dans chaque puits, sauf dans le puits IL, à l'aide de la même pipette.
- 5- Rajouter dans le puits Staph. 2 gouttes du flacon "Suppl. Staph".
- 6- Rajouter 2 gouttes d'huile de paraffine dans chaque puits, sauf les puits E. coli et Pseudomonas.
- 7- Repositionner l'étiquette adhésive sur la galerie et installer la galerie sur le support en carton prévu à cet effet.
- 8- Déposer l'ensemble au centre de la BVTuve branchée, dans le sens transversal pour homogénéiser les conditions de température sur toute la galerie [préférer ce sens au sens longitudinal, parallèle aux deux bords de la BVTuve].

2.8. Lecture

Lecture antibiogramme

La lecture du profil antibiotique commence dans les 18 à 24 h, avant ou au moment du virage de couleur du rouge au jaune du puit IL. Le puit IL vire au jaune ainsi que le puit +/- . Le puit +/- vire au jaune s'il y a une concentration de bactéries ≥ 103 CFU/ml. Dans ce cas, la lecture du profil antibiogramme peut être effectuée.

Lecture de l'identification bactérienne

Entre 24 et 48 h, lire les puits individuellement pour identifier les virages de couleur et la pousse bactérienne. Seul le puit mycoplasme ne peut se lire qu'au bout de 7 jours d'incubation. Les lectures d'associations sont possibles. Les mycoplasmes et Pseudomonas ne montrent pas de profil antibiotique sur la galerie.

3. Résultats

3.1. Elevages enquêtés et échantillons collectés

Au total, 15 éleveurs participent à l'étude. Durant les mois d'enquête, sur 100 échantillons collectés, 25 d'entre eux sont positifs au CMT. Donc, 25% des vaches présentent des mammites subcliniques (Tableau 1). Ces échantillons positifs font l'objet d'analyse bactériologique.

Tableau 1 : Nombre de vaches atteintes et de vaches saines suite au dépistage par CMT.

Nombre de vaches dépistées	100
Nombre de vaches positives	25
Nombre de vaches négatives	75
Taux de vaches à mammite subclinique	25%
Taux de vaches saines	75%

3.2. Bactéries isolées lors de mammite subclinique par le test rapide

Les résultats de la bactériologie réalisée sur les échantillons de laits positifs au CMT sont reportés dans les Tableau 2 et 3. En effet, sur les 25 échantillons de laits positifs au CMT, 15 ne présentent qu'une seule espèce bactérienne, 8 en présentent deux, 1 en présente trois [prélèvement contaminé] et un échantillon ne contient aucune espèce bactérienne, ce qui conduit à 31 isolats.

Tableau 2 : Nombre d'espèces bactériennes isolées par prélèvement

Nombre de prélèvements	Nombre d'espèces bactériennes
1	0 [4%]
15	1[60%]
8	2[32%]
1	3[4%]

Tableau 3 : Résultats de la bactériologie réalisée à l'aide de test rapide des prélèvements positifs au CMT.

Germes isolés	Nombre d'isolements	Pourcentage
Staphylocoque	10	40%
Streptocoque	3	12%
Entérobactérie	1	4%
Pseudomonas	1	4%
Staphylocoque + streptocoque	3	12%
Staphylocoque + mycoplasme	1	4%
Streptocoque + <i>E. coli</i>	2	8%
Staphylocoque + <i>E. coli</i>	2	8%
Streptocoque + staphylocoque + <i>E. coli</i> [contamination]	1	4%
Prélèvement stérile	1	4%
Total	25	100%

Les deux espèces bactériennes les plus fréquemment isolées sont les staphylocoques [40%] et les streptocoques [2%]. Les entérobactéries ne représentent que 4% et le même taux est observé pour les *Pseudomonas* [4%].

En résumé, les staphylocoques représentent au total 40% des bactéries isolées de mammites subcliniques ; Viennent ensuite les streptocoques avec 12%, la proportion des autres germes étant faible, 4% [1/25] pour les entérobactéries, 4% [1/25] des *Pseudomonas*, 12% [3/25] pour les associations staphylocoque + streptocoque, 8% [2/25] pour les associations streptocoque + *E. coli*, 8% [2/25] pour les associations staphylocoque + *E. coli*, 4% [1/25] pour les associations staphylocoque + mycoplasme, et 4% [1/25] pour les associations staphylocoque + streptocoque + *E. coli* [ou contamination]. Enfin, 4% [1/25] se révèlent négatifs [absence de bactérie pathogène malgré un CMT positif].

3.3. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques des bactéries isolées de mammites subcliniques est forte bien qu'il y ait quelques exceptions [Tableau 4].

La résistance des staphylocoques aux antibiotiques est élevée : 60% pour la Tylosine et l'association Sulfadimidine + Triméthoprim, 70% pour la Cloxaciline et la Spiramycine. A l'inverse, l'absence de résistance concerne l'association Amoxiciline + Ac. clavulanique, la Céfoperazone et la Danofloxacine.

La résistance des streptocoques à certains antibiotiques est élevée : forte résistance à l'association Sulfadimidine + Triméthoprim [100%] et 66,67% de résistance à la Cloxaciline, Spiramycine, Tylosine et aux associations Pénicilline G + Streptomycine et Tétracycline + Néomycine + Bacitracine. Cependant, on note l'absence de résistance vis-à-vis de la Céfalexine, Cefquinone, Danofloxacine, Marbofloxacine et les associations Amoxiciline + Ac. clavulanique et Ampicilline + Colistine.

Les entérobactéries isolées de mammites subcliniques présentent une absence de résistance [sensibilité] vis-à-vis de la plupart des antibiotiques testés, à l'exception de cinq d'entre eux : Danofloxacine, Spiramycine, Tylosine et associations Pénicilline G + Streptomycine et Sulfadimidine + Triméthoprim. Pour ces antibiotiques, la résistance est de 100%.

Tableau 4 : Proportion de résistances chez les staphylocoques, streptocoques et entérobactéries isolés de mammites subcliniques.

Antibiotiques	Germes en cause		
	Staphylocoques [n = 10]	Streptocoques [n = 3]	Entérobactéries [n = 1]
Amoxiciline + Ac. clavulanique	0%	0%	0%
Ampicilline + Colistine	20%	0%	0%
Céfalexine	10%	0%	0%
Céfoperazone	0%	33,33%	0%
Cefquinone	20%	0%	0%
Cloxaciline	70%	66,67%	0%
Danofloxacine	0%	0%	100%
Gentamicine	20%	33,33%	0%
Marbofloxacine	10%	0%	0%

Pénicilline G + Streptomycine	10%	66,67%	100%
Spiramycine	70%	66,67%	100%
Sulfadimidine + Triméthoprim	60%	100%	100%
Tétracycline + Néomycine + Bacitracine	20%	66,67%	0%
Tylosine	60%	66,67%	100%

3.4. Corrélation avec la culture bactériologique classique

Le tableau 5 synthétise les résultats obtenus par le test CMT réalisé au niveau des exploitations visitées, en le comparant à ceux obtenus de l'isolement bactériologique pour les laits ayant réagi positivement au précédent par les deux méthodes bactériologiques.

Avec le CMT, la prévalence des mammites subcliniques a été évaluée à 25% des vaches dépistées et la culture bactériologique à l'aide d'un test rapide : speed mam color est positive chez 96% [24/25] des vaches positives au CMT et de 100% [25/25]. Ce résultat montre une très bonne corrélation [96%] entre les résultats du test rapide et l'analyse bactériologique classique et donc, une bonne fiabilité du test rapide utilisé pour l'identification des infections intramammaires.

Tableau 5 : Résultats comparés du test CMT et de la culture bactériologique.

Animaux testés	Test utilisés			
	Testées au CMT	Positives au CMT [%] ¹	Speed Mam Color® + [%] ²	bactériologie classique + [%] ³
Total	100	25 [25]	24 [96]	25 [100]

¹ Pourcentage de vaches réagissant positivement par rapport au nombre de vaches testées.

² Pourcentage de vaches dont l'analyse bactériologique réalisée à l'aide de speed mam Color ® est positive par rapport au nombre total des vaches réagissant positivement au CMT.

³ Pourcentage de vaches dont l'analyse bactériologique réalisée à d'une bactériologie classique est positive par rapport au nombre total des vaches réagissant positivement au CMT.

4. Discussion

4.1. Conditions d'analyse

La méthode choisie pour l'antibiogramme est le Speed® Mam Color. Il existe d'autres méthodes, mais celle-ci présente plusieurs avantages : elle est rapide [l'antibiogramme spécifique de l'agent pathogène est obtenu en 24 h et l'identification bactérienne en 48 h], fiable [performances comparables en comparaison avec la méthode de culture sur gélose], avec une sensibilité de 92% et une spécificité de 96% (Manner 2001) et de nombreux antibiotiques peuvent être testés en même temps. Speed® Mam Color permet d'isoler et d'identifier les agents responsables de mammites.

Lors d'un échec thérapeutique ou d'une récurrence, Speed® Mam Color permet de réaliser un diagnostic étiologique précis et de déterminer le profil de résistance aux antibiotiques.

Au sein d'un même troupeau, l'utilisation de Speed® Mam Color sur plusieurs échantillons permet un suivi épidémiologique et une évaluation périodique de l'efficacité du plan de traitement.

4.2. Prélèvements stériles

Nos résultats de bactériologie comptent 4% [soit 1 prélèvement positif au CMT mais négatif suite à une bactériologie, sur 25 prélèvements positifs au CMT] de résultats stériles. Ces résultats sont proches de ceux trouvés par BLAINS (2004), soit un taux de 9%, mais loin de ceux trouvés par FABRE et al. (1991), soit un taux de 31%.

L'absence de culture bactérienne malgré un CMT positif peut être expliquée de plusieurs manières. Le test CMT identifie correctement 75 à 78% des quartiers infectés [sensibilité] par un agent pathogène majeur contagieux ou d'origine environnementale, et non pas 100% (Rakotozandrindrainy et al. 2007). Dans ce cas, le CMT est positif mais la bactériologie négative. On peut avoir une inflammation de la mamelle sans infection, ce qui est rare, le prélèvement est alors vraiment stérile.

Le prélèvement peut être stérile bien que l'étiologie soit infectieuse : la première éventualité est la présence d'antibiotiques dans le lait qui empêchent les germes de cultiver. Dans notre étude, la totalité des prélèvements est réalisée sur des animaux qui n'ont subi aucun traitement antibiotique, selon la déclaration des éleveurs et des vétérinaires. La présence d'une mammites infectieuse pour laquelle le lait est réellement stérile au moment du prélèvement [car le germe a été éliminé naturellement] ne peut pas être écartée (Eberhart 1986), de même que celui d'une mammites causée par des germes autres que les bactéries [mammites d'origine mycosique par exemple]. En effet, la mammites est associée dans 90% des cas à la présence de bactéries. Des causes fongiques, virales et traumatiques se partagent le reste des cas (Fabre et al 1991).

4.3. Prélèvements contaminés

Dans notre étude, seulement 4% [1 des 25 prélèvements positifs contient 3 germes en association] des prélèvements se révèlent contaminés, c'est-à-dire contenant plus de deux espèces bactériennes. Dans d'autres études, les prélèvements contaminés représentent 3 à 8,3% des prélèvements (Noireterre 2006). Le faible pourcentage de prélèvements contaminés signe une bonne maîtrise du geste, ainsi qu'une bonne préparation de la mamelle.

4.4. Bactéries isolées

Les staphylocoques sont les pathogènes les plus fréquemment isolés des mammites subcliniques. Ils sont présents avec une fréquence de 40%. Ce résultat est proche de celui trouvé par PERRIN –COULLIoud (1992).

Bien que les staphylocoques et les streptocoques représentent plus de la moitié [52%] des pathogènes en cause dans les mammites subcliniques, d'autres espèces bactériennes sont retrouvées mais en faible proportion. Cependant, le faible nombre d'élevages retenus ne permet pas d'aboutir à une conclusion.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que les mammites dites de traite [germes pathogènes majeurs à réservoir mammaire] prédominent. En effet, presque 60% des isolements bactériens mettent en évidence Staphylocoques ou Streptocoques. Cela est dû à l'absence d'application des règles de base de lutte contre les mammites : hygiène adéquate de la traite et trempage des trayons. En effet, la majorité des élevages visités pratiquent la traite manuelle. Nos résultats rejoignent ceux de certains auteurs qui montrent que l'arrêt de la traite manuelle permet de diminuer la prévalence de ce type de mammites car les mains du trayeur, vecteur principal du germe, ne sont plus en contact prolongé avec la mamelle (Myllys et al, 1998).

On note aussi que la troisième catégorie de germes mise en évidence est celle des *Pseudomonas* qui représentent 4% des isolements bactériens, ce qui est beaucoup pour un groupe de germes réputés pathogènes mineurs.

Quel que soit l'animal prélevé, on constate l'absence de *Listeria*. Son absence dans ces élevages est vraisemblablement due à l'utilisation d'un sol de type bétonné.

L'augmentation de la prévalence des germes incriminés dans les mammites peut être expliquée par l'absence de pré-trempe des trayons lors de la préparation de la mamelle à la traite ainsi qu'à un post-trempe des trayons mal conduit en fin de traite.

Une enquête menée en France met en évidence l'importance des mammites contagieuses à staphylocoques et streptocoques (Serieys 2003). Les résultats d'une autre étude réalisée en Argentine tendent à se rapprocher des nôtres, avec une part très importante d'isolement de staphylocoques qui représentent presque 40% des isollements de laits de mammites (Gentilini et al 2000).

L'examen bactériologique est indispensable à la connaissance du germe en cause des infections mammaires. La technique présentée dans ce chapitre permet un gain de temps par rapport à la méthode classique et, pour un coût moins important [environ 3000 dinars par prélèvement]. C'est un moyen, pour le praticien, de rémunération de son conseil. L'examen bactériologique est plus spectaculaire pour l'éleveur qu'un audit difficile à vendre, et répond au motif de consultation (Meissonnier 1989). Celui-ci est encore peu prescrit ou réalisé en regard du nombre de mammites en élevage. Il conduit à un ciblage des traitements infectieux et préventifs, afin d'éviter que ceux-ci ne soient identiques quelle que soit la nature du pathogène. L'emploi d'antibiotiques à large spectre favorise l'apparition de résistance et surtout ne présente pas la meilleure efficacité spécifique. Un ciblage étroit n'est pas toujours réalisable, mais entre les deux, un ciblage dit « opérationnel » en fonction de la dominante pathologique de l'exploitation, améliore le taux de guérison bactériologique (Hillerton et al 1993) et évite la surconsommation d'antibiotiques (Ben Hassen et al 2003). Pour certains (Barry et Hillerton 2002), l'examen bactériologique n'est pas forcément à généraliser à toutes les mammites, mais il est utile lors de flambée d'infection mammaire et pour la mise en place de mesures préventives ou pour connaître le germe en cause d'une augmentation du taux cellulaire d'un élevage.

4.5. Résistance des bactéries isolées de mammites subcliniques

Les résultats de l'antibiorésistance des bactéries isolées présentent de nombreux points communs avec ceux rapportés dans la bibliographie montrant la grande sensibilité des staphylocoques à la plus part des antibiotiques. Le taux de résistance des staphylocoques observé dans notre étude pour la pénicilline G [10%] est inférieur à ceux rapportés par HELEILI (2002) 18% ou BOUAZIZ (2005) [35%]. Cependant, une fréquence de résistance des Staphylocoques d'origine animale très élevée à la pénicilline G de l'ordre de 83,5% a été signalée par RAHAL (2001).

La résistance aux antibiotiques varie en fonction des pays : en Tunisie, des fréquences de résistance élevées vis à vis de la pénicilline G [60%] ont été observées par BEN HASSEN et al. (2003).

Le niveau de résistance des staphylocoques observé dans notre étude vis à vis de la pénicilline G est identique vis à vis de la Marbofloxacin et de la Céfalexine ou presque pour Cefquinome et gentamicine.

La résistance très élevée des streptocoques [100%] obtenue dans notre étude vis à vis de l'association : Sulphadimidine + Triméthoprime est nettement supérieure aux taux de 60% et 35% rapportés respectivement par MESSADI et al. (2002) et BOUAZIZ (2005).

La résistance élevée [67%] des streptocoques vis à vis de la Tétracycline est comparable à celle obtenue par MESSADI et al. (2002) qui rapportent une fréquence de résistance à la tétracycline de 64%.

Cependant, elle est supérieure au taux de 54% rapporté par Markovec et Ruegg (2003) ou par BOUCHOT et al. (1985) [30%] et BOUAZIZ (2005) [40%].

Les streptocoques se sont montrés sensibles aux céphalosporines. En effet, des résistances faibles voir nulles ont été mises en évidence pour les antibiotiques de la famille des cephalosporines. Ce résultat est en accord avec ceux de MYLLYS et al. (1998).

La résistance des streptocoques à l'association contenant la tétracycline est élevée puisque 67 % des streptocoques se sont révélés résistants. Nos résultats s'éloignent de ceux rapportés par la littérature : de 0 à 27% (Gentilini et al. 2000).

La forte résistance de ces bactéries à cet antibiotique est liée, à notre avis, à son utilisation abusive par les vétérinaires praticiens vu son prix comparé aux autres antibiotiques et ce, pour prévenir ou guérir les différentes infections animales, ce qui a créé cette forte résistance [sélection des souches résistantes].

La forte résistance des pathogènes isolés de mammites bovines est sans doute le reflet à la fois du caractère transmissible des germes résistants, et des mauvaises pratiques d'utilisation des antibiotiques dans la filière [utilisation abusive des antibiotiques].

Les fréquences de résistance élevées vis-à-vis de ces antibiotiques qui sont largement utilisés en médecine vétérinaire, pourraient expliquer les échecs thérapeutiques rencontrés sur le terrain.

Toutefois, dans notre étude, toutes les bactéries ont montré une sensibilité à la danofloxacin et à l'association amoxiciline + ac.clavulanique, ce qui constitue un choix intéressant pour les vétérinaires voulant éviter le problème de l'antibiorésistance. Pour notre part, cette sensibilité des souches bactériennes à ces antibiotiques, est imputée, à leur relative non utilisation par les praticiens vétérinaires, ces derniers utilisant plus volontiers d'autres molécules telles [tétracycline, colistine, gentamicine et l'ampicilline], et à la complémentarité démontrée de ces deux molécules.

l'existence de différentes techniques de mesure de la sensibilité aux antibiotiques [méthode d'ensemencement, technique de disques, technique de dilution en milieu gélosé, technique de micro-dilution en milieu liquide] tout comme les critères d'interprétation qui sont différents d'une étude à l'autre (Gentilini et al. 2000) pourraient expliquer la différence dans les résultats obtenus dans notre présent travail par rapport autres travaux.

Conclusion

Les mammites de la vache laitière représentent la pathologie dominante en élevage laitier et la principale cause d'utilisation des antibiotiques tant à des fins curatives [traitement des mammites en lactation et au tarissement] que préventives [traitement au tarissement]. La connaissance des agents pathogènes responsables et de leur résistance, qui permet le choix d'antibiotiques appropriés, est rendue nécessaire, à la fois pour préserver l'efficacité des traitements et pour répondre à l'inquiétude sur les répercussions en santé humaine.

L'analyse bactériologique par des tests rapide comme le Speed Mam Color® est une méthode relativement simple à mettre en œuvre. Elle est d'autre part peu coûteuse et rentable tant pour le vétérinaire que pour l'éleveur. Elle permet un diagnostic précis et rapide de l'agent responsable de mammite au niveau de l'individu et surtout de l'élevage. L'antibiogramme réalisé par la même méthode, est aussi intéressant. Il oriente le prescripteur sur un choix raisonné des antibiotiques actifs sur la bactérie en cause Il permettrait une utilisation plus rationnelle, économique et responsable des antibiotiques.

Le Speed Mam Color® a le potentiel d'être un outil diagnostique important. Cependant, ce système de culture ne remplace pas le laboratoire car il ne permet pas d'identifier tous les pathogènes.

Plus de 25% des vaches présentent une mammite subclinique. L'évolution des infections mammaires en élevage nécessite un suivi bactériologique régulier afin d'adapter les mesures prophylactiques et le plan de traitement. Cependant, les efforts doivent être entretenus afin d'instaurer un suivi de résistances aux antibiotiques ainsi que de la consommation et des conditions d'utilisation des antibiotiques dans le traitement des mammites bovines.

Références bibliographiques

- Bastien-Ceret J, Durel L, Leiseing E (2004) Apport de la méthodologie de la conférence de consensus sur le thème du traitement et de la prévention médicale des mammites : de l'idée au projet, exemples d'application. Journées Nationales des G.T.V., Tours, 63-69.
- Blains S (2004) Intérêts et techniques de l'identification bactérienne des germes de mammites au cabinet vétérinaire. Journées Nationales des G.T.V., Tours, 811-820.
- Bidaud O, Houffschmit T P, Viguerie Y (2007) Étiologie des mammites bovines en France entre 2005-2007. Journées bovines nantaises. 121-122.
- Bradley AJ, Green MJ (2000) A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. Journal of Dairy Science 83: 1957-1965.
- Capurro A, Concha C, Nilsson L, Ostensson K (1999) Identification of coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. Acta Veterinaria Scandinavica 40: 315-21
- Durel L, Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P, Le Page Ph (2004) Mammites des bovins [cliniques et subcliniques]. Démarches diagnostiques et thérapeutiques. La Dépêche Technique, Supplément technique 87 à la Dépêche Vétérinaire 39 p.
- Durel L, Poutrel B (2006) Diagnostic bactériologique des mammites pour le vétérinaire praticien. Solutions pratiques et limites. Bulletin des GTV 33:43-53.
- Eberhart RJ (1986) Management of dry cow to reduce mastitis. Journal of Dairy Science 69:1721-1732.
- Erskine RJ, Eberhart RJ, Grosso PJ, Scholz RW (1989) Induction of *E. coli* mastitis in cows fed selenium-deficient or selenium-supplemented diets. American Journal of Veterinary Research 50n12:2093-2100.
- Fabre JM, Berthelot X, Le Bret P, Blanc MF, Blanc MC (1991) Estimation de la fréquence des différents germes responsables d'infection mammaires en élevage bovin laitier dans le sud-ouest de la France. Revue de Médecine vétérinaire 142 : 823-829.
- Faroult B, Poutrel B, Brouillet P, Le page P (2003) Mammite des bovins (cliniques et subcliniques) : démarche diagnostique et thérapeutique. La Dépêche Vétérinaire (suppl.) 87.
- Gentilini E, Denamiel G, Liorente P (2000) Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. Journal of Dairy Science 83 : 1224-1227.
- Lacombe JF (1998) Pathologie liée à la machine à traire , in accidents et maladies du trayon. Edition France Agricole 189-231.
- Manner Y (2001) Méthodes de bactériologie des mammites cliniques, bibliographie, étude expérimentale d'un test bactériologique rapide. Thèse Vétérinaire, Nantes.

- Myllys V, Asplund K, Broefeldt E, Hirvelä –Koski V, Honkanen –Buzalski T, Junttila J, Kulkas L (1998) Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995- changes in prevalence and antimicrobial resistance. *Acta Veterinaria Scandinavica* 39: 119-126.
- Noireterre P (2006) Suivis de comptages cellulaires et d'examen bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière Étude expérimentale au centre d'élevage Lucien 21 Bizet de Poisy. École nationale vétérinaire de Lyon, Thèse Présentée à l'université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie) pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire 98 p.
- Perrin –Coullioud M (1992) Staphylocoques et mammites bovines : importance des espèces différentes de *Staphylococcus aureus*, problème des échecs thérapeutiques. *Bulletin GTV* 2 : 420, 7-16.
- Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC (2002) *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Ed. Wiley-Blackwell, 504 p.
- Rakotozandrindrainy R, Razafindrajaona JM, Foucras G (2007) Diagnostic rapide à la ferme des mammites subcliniques des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. *Revue de Médecine Vétérinaire* 158 : 100-105.
- Rasmussen MD, Bjerring M, Skjoth F (2005) Visual appearance and CMT score of foremilk of Individual quarters in relation to cell count automatically milked. *Journal of Dairy Research* 72:49-56.
- Sahoo NR, Kumar P, Bhusan B, Bhattacharya TK, Dayal S, Sahoo M (2012) Lysozym in livestock: A guide to selection for disease resistance: a review. *Journal of Animal Science Advances* 2,4:347-360.
- Van De Leemput E (2007) Analyse bactériologique du lait. Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice, Nantes.
- Wilesmith JW, Francis PG (1986) Incidence of clinical mastitis in a cohort of british dairy herds. *Veterinary Research* 118:119-124.